

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIANA MORAIS MISSINA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS DE ATIVIDADE BIOLÓGICA DO
ÂNION DECAVANADATO ASSOCIADO A CÁTIONS ORGÂNICOS

CURITIBA

2017

JULIANA MORAIS MISSINA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS DE ATIVIDADE BIOLÓGICA DO
ÂNION DECAVANADATO ASSOCIADO A CÁTIONS ORGÂNICOS

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre em Química no Curso de
Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas
da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Profa. Dra. Jaísa Fernandes Soares

Coorientadora: Profa. Dra. Giovana Gioppo Nunes

CURITIBA

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR
BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

M678s

Missina, Juliana Moraes

Síntese, caracterização e estudos de atividade biológica do ânion decavanadato associado a cátions orgânicos / Juliana Moraes Missina. – Curitiba, 2017.
185 p. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2017.

Orientador: Jaísa Fernandes Soares.
Coorientadora: Giovana Gioppo Nunes.

1. Decavanadato. 2. Cátions orgânicos. 3. Escherichia coli. 4. Inibição do crescimento.
5. Citometria de fluxo. I. Universidade Federal do Paraná. II. Soares, Jaísa Fernandes. III. Nunes, Giovana Gioppo. IV. Título.

CDD: 543

Bibliotecária: Romilda Santos - CRB-9/1214

TERMO DE APROVAÇÃO

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS DE ATIVIDADE
BIOLÓGICA DO ÂNION DECAVANADATO ASSOCIADO A CÁTIONS
ORGÂNICOS**

por

JULIANA MORAIS MISSINA

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de

Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,

pela Comissão Examinadora composta por:

Orientador:



Prof.^a Dr.^a Jaísa Fernandes Soares
Dep. de Química – UFPR



Prof.^a Dr.^a Ana Maria da Costa Ferreira
Instituto de Química – USP



Prof.^a Dr.^a Tatiana Renata Gomes Simões
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 31 de março de 2017.

AGRADECIMENTOS

Às minhas orientadoras, Profa. Dra. Jaísa Fernandes Soares e Profa. Dra. Giovana Gioppo Nunes, por me acolherem sob sua orientação, por toda a ajuda e paciência durante este período.

Ao Prof. Dr. Emanuel Maltempi de Souza por nos ceder espaço e material para os ensaios biológicos, e também pela ajuda com ideias e discussões sobre os ensaios.

Ao Prof. Dr. Glaucio Valdameri pelo treinamento para utilizar o citômetro de fluxo e por todo o auxílio acerca dos sistemas biológicos.

Ao Prof. Dr. Fábio Souza Nunes pela correção do projeto de mestrado.

À Profa. Dra. Tatiana Renata Gomes Simões pela correção do relatório anual.

Ao Prof. Dr. Glaucio Valdameri e à Profa. Dra. Tatiana Renata Gomes Simões por todas as sugestões e questionamentos durante o exame de qualificação.

À Profa. Dra. Ana Maria da Costa Ferreira e à Profa. Dra. Tatiana Renata Gomes Simões por aceitarem avaliar este trabalho na banca de defesa da dissertação.

Ao Prof. Dr. Eduardo L. de Sá pelo apoio sempre que preciso durante este período.

Ao Dr. André Luis Rüdiger pela obtenção dos espectros de RMN de ^1H e de ^{51}V dos compostos deste trabalho.

Ao Dr. David Hughes e à Francielli Santana pela coleta de dados e resolução das estruturas de raios X aqui apresentadas.

Ao Dr. Siddhartha Om Kumar Giese, à Ma. Kahoana Postal e ao Me. Maurício Portioli Franco pela obtenção dos espectros de RPE.

Ao Me. Danilo Stinghen pela simulação de um dos espectros de RPE.

Ao Ângelo Roberto dos Santos Oliveira pelas análises termogravimétricas.

À Ma. Franciane Silva Beltramin de Castro pelo treinamento para utilização do espectrofotômetro UV-Vis-NIR.

À Grazielli da Rocha pelo treinamento para uso do espectrofotômetro para coleta dos espectros de absorção no infravermelho.

Aos demais técnicos do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná pela manutenção da infraestrutura dos laboratórios e pelo auxílio com material ou análises sempre que necessário.

Aos demais professores do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná por toda a contribuição para minha formação tanto durante este período de mestrado quanto durante a graduação.

Aos amigos dos laboratórios de Bioinorgânica, de Síntese Inorgânica e de Raios X de Monocristal: Kahoana Postal, Siddhartha Om Kumar Giese, Maurício Portioli Franco, Danilo Stingen, Lucas Emanuel do Nascimento Aquino, Guilherme Augusto Barbosa, Thaiane Gregório, Francielli Santana, André Luis Rüdiger, Carla Krupczak, André Ferrarini, Viktor Kalbermatter Boell e Luiza Budel Paes Leme pelas conversas, amizade e aprendizado que todos me proporcionaram ao longo desses dois anos.

Aos demais amigos dos Departamentos de Química e Bioquímica da Universidade Federal do Paraná: Karine Naidek, Fabiane dos Santos Carlos, Gabriel Kaetan Baio Ferreira, Camila Suemi Inagaki, Jaqueline Pazinato, João Felipe Stival, João Paulo Vita Damasceno, Laís Cristine Lopes, Mayara Hissami Inoue, Samantha Husmann, Karen Mary Mantovani, Charles Carvalho, Tailor Machado Peruzzolo, Suelen Crevelim da Silva, Aline Silva Muniz, Caprici Matzembacher Fernandes, Beatriz Arruda Valença, Maritza Araujo Todo Bom, Luis Paulo Silveira Alves, Nadhine de Assis Rios e Vivian Rotuno Moure.

Aos meus pais, Mauro Missina e Maria José Morais Missina, por todo amor, carinho e compreensão durante este período.

Às minhas irmãs, Patrícia Morais Missina e Valéria Morais Missina, e ao meu cunhado, Ricardo Fernandes da Costa Jardim, por todo o amor e compreensão quando não pude estar presente.

À minha amiga Luiny Rassko Godoy pelos ouvidos e ombros.

Às minhas amigas Angelita Rolim de Moura e Gislaine Marks pelas dicas e apoio antes e durante o período de mestrado.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação Araucária e ao CNPq pelo financiamento.

À Universidade Federal do Paraná (UFPR) e em especial ao Programa de Pós-graduação em Química (PPGQ) pelos recursos e auxílio neste trabalho.

Aos demais que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, muito obrigada!

“Don’t let your dreams be dreams.”

- Jack Johnson

RESUMO

O decavanadato, $[H_nV_{10}O_{28}]^{n-6}$ ou " V_{10} ", é um potente inibidor enzimático cujo papel tem sido avaliado em diferentes aplicações medicinais. Neste trabalho buscou-se sintetizar o V_{10} com quatro contraíons orgânicos que são endógenos ou amplamente utilizados em ensaios biológicos: os ácidos conjugados da nicotinamida e da isonicotinamida, do 2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol ("tris") e da piridoxina, e avaliar a ação dos produtos sobre culturas de bactérias (*Escherichia coli*). A reação do V_2O_5 com isonicotinamida ou nicotinamida (2,5:3) gerou cristais amarelos de $(1,3-C_6H_7N_2O)_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 2H_2O \cdot 2C_6H_6N_2O$ (**NicoV₁₀**) e de $(1,4-C_6H_7N_2O)_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 2C_6H_6N_2O$ (**IsoV₁₀**) em alto grau de pureza. Estes produtos foram caracterizados por difratometria de raios X de monocristal, análise elementar, análise termogravimétrica e por métodos espectroscópicos, como RMN de 1H e ^{51}V , espectroscopia vibracional (IV e Raman), RPE e espectroscopia eletrônica (UV-vis). Os espectros de RMN de ^{51}V em D_2O apresentaram sinais em $\delta = -425$ ppm, -507 ppm e -525 ppm, referentes aos três ambientes de coordenação do vanádio na estrutura do polioxoânion $[H_3V_{10}O_{28}]^{3-}$, indicando a manutenção da estrutura polinuclear em solução. A reação de $NaVO_3$ com tris, por sua vez, produziu o decavanadato $[(HOCH_2)_3CNH_3]_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 10H_2O$ (**TrisV₁₀**), enquanto a reação com piridoxina levou à formação do complexo binuclear $[(VO_2)_2\mu_2-(C_8H_{10}NO_3)_2]$ (**PirV₂**). Estes dois sistemas mostraram-se complexos devido à ocorrência de reações redox envolvendo os centros metálicos e à cristalização conjunta com decavanadatos contendo contraíons inorgânicos. O efeito inibitório de **IsoV₁₀** e **NicoV₁₀** sobre o crescimento de células procarióticas foi avaliado em culturas de *E. coli*. Os valores de GI_{50} de $2,8 \text{ mmol L}^{-1}$ para **NicoV₁₀** e de $4,0 \text{ mmol L}^{-1}$ para **IsoV₁₀** foram significativamente menores do que o determinado para o decavanadato de sódio, $[Na_6(H_2O)_{20}V_{10}O_{28} \cdot 4H_2O]_n$ – **NaV₁₀** (GI_{50} de $11,0 \text{ mmol L}^{-1}$). A toxicidade do decavanadato frente a células procarióticas foi avaliada também pelo emprego da técnica de citometria de fluxo. Para tal, determinou-se o efeito dos compostos de interesse sobre o potencial de membrana, a permeabilidade da membrana celular e a produção de espécies reativas de oxigênio pelas culturas bacterianas tratadas com **NaV₁₀**, **IsoV₁₀** e **NicoV₁₀**. A medida da ação sobre o potencial de membrana produziu resultados similares para as culturas tratadas com os três compostos (**NaV₁₀**, **IsoV₁₀** e **NicoV₁₀**), e a diminuição deste potencial na presença dos polioxovanadatos foi cerca de quatro vezes maior em relação à cultura controle não tratada. A porcentagem de bactérias inviáveis foi de 32,3% para **NaV₁₀** e de 100% para **IsoV₁₀** e **NicoV₁₀**, confirmando a potencialização da toxicidade do polioxovanadato pelas espécies orgânicas em solução. Também foram observadas diferenças significativas nos níveis de ERO gerados por **IsoV₁₀** e **NicoV₁₀** (aumento de 1,4 e 1,7 vezes, respectivamente) em relação ao valor obtido para **NaV₁₀**. A combinação dos ensaios realizados por citometria de fluxo evidenciou o aumento do estresse oxidativo e a destruição da membrana celular, um componente vital para as células. A atividade citotóxica relativa dos polioxometalatos (**NicoV₁₀** > **IsoV₁₀** > **NaV₁₀**) está possivelmente associada à estabilidade do agregado metálico em solução e depende das interações que são criadas entre o ânion e as bactérias na presença ou não das moléculas orgânicas.

Palavras-chave: Decavanadato, cátions orgânicos, *Escherichia coli*, inibição do crescimento, citometria de fluxo.

ABSTRACT

Decavanadate, $[H_nV_{10}O_{28}]^{n-6}$ or “ V_{10} ”, is a potent enzyme inhibitor which has been evaluated for diverse medicinal applications. The present work aimed at synthesizing V_{10} with four counterions that are endogenous or largely used in biological assays: the conjugate acids of nicotinamide, isonicotinamide, 2-amino-2-hydroxymethyl-propane-1,3-diol (“tris”), and pyridoxine. The reaction of V_2O_5 with nicotinamide or isonicotinamide (2,5:3) yielded highly pure yellow crystals of $(1,3-C_6H_7N_2O)_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 2H_2O \cdot 2C_6H_6N_2O$ (**NicoV₁₀**) and $(1,4-C_6H_7N_2O)_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 2C_6H_6N_2O$ (**IsoV₁₀**). The products were characterized by single-crystal X-ray diffraction, elemental and thermogravimetric analyses, together with spectroscopic methods such as 1H and ^{51}V NMR, vibrational (FTIR and Raman), EPR and electronic (UV-Vis) spectroscopies. The ^{51}V NMR spectra in D_2O presented signals at $\delta = -425$ ppm, -507 ppm and -525 ppm related to the three coordination environments of vanadium in the structure of the polyoxoanion $[H_3V_{10}O_{28}]^{3-}$, which indicates that the polynuclear structure is maintained in solution. The reaction of $NaVO_3$ with “tris” yielded the decavanadate $[(HOCH_2)_3CNH_3]_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 10H_2O$ (**TrisV₁₀**), whereas the reaction with pyridoxine produced the binuclear complex $[(VO_2)_2\mu_2-(C_8H_{10}NO_3)_2]$ (**PirV₂**). These systems have been shown to be complex due to the occurrence of redox reactions involving the metal centers, and to crystallization together with decavanadates containing inorganic counterions. The inhibitory effect of **IsoV₁₀** and **NicoV₁₀** upon growth of prokaryotic cells was evaluated in *E. coli* cultures. GI_{50} values of 2.8 mmol L^{-1} for **NicoV₁₀** and 4.0 mmol L^{-1} for **IsoV₁₀** were significantly lower than that determined for sodium decavanadate, $[Na_6(H_2O)_{20}V_{10}O_{28} \cdot 4H_2O]_n$ – **NaV₁₀** (GI_{50} of 11.0 mmol L^{-1}). The toxic effect of decavanadate on prokaryotic cells was also evaluated by the flow cytometry technique. Parameters such as membrane potential, membrane permeability and the production of reactive oxygen species were analyzed on the bacterial cultures treated with **NaV₁₀**, **IsoV₁₀** and **NicoV₁₀**. The measured effect on the bacterial membrane potential was similar in the cultures treated with all three compounds (**NaV₁₀**, **IsoV₁₀** and **NicoV₁₀**), and the observed damage was about four times higher as compared to the non-treated control culture. The percentage of non-viable cells was 32.3% for **NaV₁₀** and 100% for **IsoV₁₀** and **NicoV₁₀**, which confirms the enhancement in the toxic effect of the polyoxovanadate in the presence of its organic counterions in solution. Moreover, significant differences were found in the concentrations of reactive oxygen species produced by **IsoV₁₀** and **NicoV₁₀**, which were respectively 1.4 and 1.7 times higher than the reference value obtained for **NaV₁₀**. The combination of the results obtained by flow cytometry evidenced an increased level of reactive oxygen species and a complete damage to the membrane, an essential cell element. The relative cytotoxic activity of the polyoxometalates (**NicoV₁₀** > **IsoV₁₀** > **NaV₁₀**) is possibly associated with the stability of the metal aggregates in solution, and depends on the interactions between the anion and the bacteria in the presence or absence of the organic molecules.

Key words: Decavanadate, organic cations, *Escherichia coli*, growth inhibition, flow cytometry.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. (a) Exemplo de um animal da espécie <i>Ascidia gemmata</i> , considerado o organismo com a maior capacidade de acúmulo de vanádio da natureza. Ele pode atingir uma concentração do metal 10^7 vezes superior àquela encontrada nos oceanos. (b) Provável ambiente de coordenação do grupo oxidovanádio(IV), vanadila, evidenciando a ligação de um resíduo de lisina de uma vanabina (<i>Ascidia sydneiensis samea</i>). ¹⁷	27
FIGURA 2. (a) Fungo do gênero <i>Amanita muscaria</i> . (b) Estrutura molecular do complexo amavadina.	28
FIGURA 3. Estrutura de bola e bastão do cluster metálico da VN ₂ ase sugerida por XAS-EXAFS. São representados também os resíduos de cisteína, histidina e homocitrato da apoenzima que se ligam ao cluster. A esfera laranja corresponde ao centro de vanádio(II), as esferas roxas são correspondentes aos sete centros de ferro conectados entre si por pontes sulfeto (esferas amarelas). A esfera cinza no centro constitui um ânion carbeto que se acredita fazer ponte entre seis dos átomos de Fe da estrutura. XAS-EXAFS = X-ray Absorption Spectroscopy-Extended X-ray Absorption Fine Structure.	29
FIGURA 4. Estruturas de alguns dos compostos de vanádio citados. (a) bis(maltolato)oxovanádio(IV) (BMOV); (b) bis(etilmaltolato)oxovanádio(IV) (BEOV); (c) metvan; (d) estrutura dos compostos de fórmula geral $[V^{IV}O(SO_4)(H_2O)_2(NN)]$ utilizados em ensaios contra o <i>Trypanosoma cruzi</i> .	31
FIGURA 5. Representação de bolas e varetas e representação de poliedros dos polioxoânions: (a) Lindqvist, com fórmula geral $[M_6O_{19}]^{n-}$, (b) Anderson, com fórmula geral $[XM_6O_{24}]^{n-}$, representação de poliedros de estruturas de (c) Keggin, com fórmula geral $[XM_{12}O_{40}]^{n-}$ e (d) Wells–Dawson, com fórmula geral $[X_2M_{18}O_{62}]^{n-}$; onde M (azul) = W, Mo ou V, os oxigênios dos grupos oxo estão em vermelho e X = átomos dos grupos principais em amarelo. Nas representações de poliedros, o metal de transição encontra-se no centro de cada poliedro azul e os vértices representam átomos de oxigênio dos grupos oxo.	33
FIGURA 6. Exemplos de estruturas de alguns polioxovanadatos (POV). Os poliedros amarelos representam centros de vanádio(V) e os poliedros azuis representam centros de vanádio(IV). As esferas vermelhas nos vértices dos	

poliedros representam átomos de oxigênio. (a) $[V_{12}O_{32}]^{4-}$; (b) $[V_{16}O_{42}]^{4-}$; e (c) $[V_{18}O_{42}]^{12-}$	34
FIGURA 7. (a) Estruturas dos oligômeros de vanádio $[H_2VO_4]^-$ / $[HVO_4]^{2-}$ (V_1 e V_1' respectivamente), $[HV_2O_7]^{3-}$ (V_2), $[V_4O_{12}]^-$ (V_4), $[V_5O_{15}]^-$ (V_5) e $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ (V_{10}). (b) Gráfico relacionando a predominância das diferentes espécies de íons vanadato em diferentes faixas de pH na presença de NaCl aquoso a $0,010 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$	35
FIGURA 8. (a) Representação estrutural do ânion decavanadato, $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ (V_{10}). (b) Representação de poliedros do V_{10} , em que os centros dos poliedros representam os centros de vanádio(V) e as pequenas esferas vermelhas nos vértices representam os átomos de oxigênio da estrutura do polioxoânion.	36
FIGURA 9. Estrutura de raios X demonstrando o ânion decavanadato (representado em vermelho e cinza) ligado à <i>RnNTPDase1</i> (nucleosídeo trifosfato difosfo-hidrolase) de <i>Rattus norvegicus</i>	37
FIGURA 10. Possíveis alvos biológicos do V_{10} em células eucarióticas, onde 1 = proteínas de membrana, 2 = bombas de Ca^{2+} do retículo endo- ou sarcoplasmático, 3 = proteínas do sistema contrátil em células musculares, 4 = actina, 5 = mitocôndria, 6 = produção de ERO (Espécies Reativas de Oxigênio), 7 = transportadores de íons transmembrana e 8 = núcleo.	38
FIGURA 11. Polioxovanadatos pertencentes às classes do tipo I e II. (a) Estrutura do hexameto-oxo-hexavanadato $[V_6O_{13}(OCH_3)_6]^{2-}$, onde vanádio, oxigênio e carbono são pintados de amarelo, vermelho e preto, respectivamente. Este alcóxido foi formado a partir da alcoólise de hidróxidos em ponte presentes no vanadato de partida e preserva a estrutura de Lindqvist do POV de partida. (b) Diagrama ORTEP de $(NH_4)_2(C_8H_{10}N_4O_2)_4[H_4V_{10}O_{28}]$, onde $C_8H_{10}N_4O_2$ = cafeína.	39
FIGURA 12. (a) Formação de dímeros de V_{10} no composto $[(n-C_5H_{11})_4N]_3[H_3V_{10}O_{28}] \cdot 2(CH_3)_2CO$ frente à presença de 2-propanona (acetona) como solvente de cristalização. (b) Formação de unidades discretas de $(DMAPH)_6[V_{10}O_{28}] \cdot H_2O$ (DMAPH = 4-dimetilaminopiridínio) na presença de somente uma molécula de água de cristalização.	40
FIGURA 13. Sequência de hidrólise de ânions e óxidos na química do vanádio(V).	41
FIGURA 14. Representação esquemática da interação de $(Hmet)_2V_{10}$ com uma micela reversa, proposta a partir de dados de RMN e DLS.	44

FIGURA 15. Moléculas orgânicas selecionadas para este trabalho. (*) Tris(hidroximetil)aminometano.	45
FIGURA 16. Espectros de absorção na região do infravermelho de NicoV ₁₀ e IsoV ₁₀ , em comparação ao de NaV ₁₀ , usado como referência do ânion V ₁₀ sem cátions orgânicos, registrados em pastilhas de KBr.	65
FIGURA 17. Espectros de espalhamento Raman registrados para os produtos NicoV ₁₀ e IsoV ₁₀ em comparação com NaV ₁₀ , usado como referência do ânion V ₁₀ sem cátions orgânicos.	67
FIGURA 18. Representação ORTEP ¹⁴⁵ da estrutura do produto NicoV ₁₀ , (1,3-C ₆ H ₇ N ₂ O) ₄ [H ₂ V ₁₀ O ₂₈]·2H ₂ O·2C ₆ H ₆ N ₂ O, com o esquema de numeração dos átomos. Para maior clareza, os átomos de hidrogênio das moléculas orgânicas foram removidos da representação. As elipsoides estão apresentadas com 50% de probabilidade.	69
FIGURA 19. Representação ORTEP ¹⁴⁵ da estrutura do produto IsoV ₁₀ , (1,4-C ₆ H ₇ N ₂ O) ₄ [H ₂ V ₁₀ O ₂₈]·2C ₆ H ₆ N ₂ O, com o esquema de numeração dos átomos. Para maior clareza, os átomos de hidrogênio das moléculas orgânicas foram removidos da representação. As elipsoides estão apresentadas com 50% de probabilidade.	69
FIGURA 20. Empacotamento cristalino de NicoV ₁₀ ao longo do eixo b, mostrando as ligações de hidrogênio que estabilizam a estrutura cristalina do produto. A distribuição quase paralela dos anéis aromáticos pode ser vista nesta figura. As elipsoides estão apresentadas com 50% de probabilidade.	72
FIGURA 21. Empacotamento cristalino de IsoV ₁₀ ao longo do eixo b, mostrando as ligações de hidrogênio que estabilizam a estrutura cristalina do produto. As elipsoides estão representadas com 50% de probabilidade.	73
FIGURA 22. Diagramas de bolas e bastões evidenciando a protonação do ânion [H ₂ V ₁₀ O ₂₈] ⁴⁻ em (a) NicoV ₁₀ e (b) IsoV ₁₀ . As bolas azuis, vermelhas e brancas representam vanádio(V), oxigênio e hidrogênio respectivamente. (c) Diagrama que identifica os sítios de diferentes densidades de carga negativa no ânion decavanadato: Ob > Oe > Oc > Od > Of > Og.	74
FIGURA 23. Termograma registrado para NicoV ₁₀ , evidenciando as perdas de massa e as temperaturas em que elas ocorrem.	77
FIGURA 24. Termograma registrado para IsoV ₁₀ , evidenciando as perdas de massa e as temperaturas em que elas ocorrem.	78

FIGURA 25.	Ligações de hidrogênio intermoleculares nas estruturas cristalinas de (a) NicoV ₁₀ , mostrando as interações entre duas moléculas de nicotinamida (à esquerda) e dois cátions nicotinamídio (à direita); e (b) IsoV ₁₀ , em que ligações de hidrogênio fortes (N3–H1N3···O3A e N5–H2N5···O2A) formam o homodímero isonicotinamida-isonicotinamídio (à esquerda) ou ligam dois cátions isonicotinamídio (N1–H1N1···O1A, à direita). Todas as figuras também mostram as interações com o ânion V ₁₀ . Os átomos de carbono estão representados em cinza escuro nos cátions e em cinza claro nas moléculas neutras.....	79
FIGURA 26.	Espectros de RMN de ¹ H (400 MHz) em H ₂ O/D ₂ O registrados à temperatura ambiente para os produtos NicoV ₁₀ e IsoV ₁₀ a 1,0 mmol·L ⁻¹	81
FIGURA 27.	(a) Conversão do ânion decavanadato em diferentes oligômeros de V ^V dependente do pH do meio. O decavanadato é representado explicitando-se os diferentes átomos de vanádio presentes na estrutura. (b) Espectros de RMN de ⁵¹ V de NaV ₁₀ a 1,0 e a 5,0 mmol L ⁻¹ , evidenciando o aumento da intensidade do sinal referente à espécie V ₄ em relação a V ₁ e V ₂ devido ao aumento da concentração de vanádio em solução.	83
FIGURA 28.	Espectros de RMN de ⁵¹ V (105,25 MHz) dos compostos NaV ₁₀ , NicoV ₁₀ e IsoV ₁₀ (1,0 mmol·L ⁻¹) mostrando as atribuições de cada sinal observado. O pH das amostras de NicoV ₁₀ e IsoV ₁₀ foi igual a 5, enquanto o da amostra de NaV ₁₀ foi igual a 7.	84
FIGURA 29.	Espectros de RPE registrados em solução aquosa a 77K para os compostos NaV ₁₀ , NicoV ₁₀ e IsoV ₁₀	85
FIGURA 30.	Espectros de absorção na região do UV-visível registrados para o produto NicoV ₁₀ nas concentrações de 0,250, 0,100, 0,075, 0,050, 0,025 e 0,010 mmol·L ⁻¹ em água.	86
FIGURA 31.	Mudança de ambiente de coordenação do vanádio no decavanadato em relação a vanadatos simples (exemplificados nesta figura pelo V ₁). Essa mudança de ambiente provoca um abaixamento da energia da transição eletrônica de transferência de carga no V ₁₀ , causando o aparecimento de cor.	86
FIGURA 32.	Espectros de absorção na região do infravermelho dos produtos TrisV ₁₀ e PirV ₂ em comparação a NaV ₁₀ , usado como referência do ânion V ₁₀ sem cátions orgânicos, registrados em pastilha de KBr.	88
FIGURA 33.	Espectro de espalhamento Raman registrado para o produto PirV ₂	90

FIGURA 34. Diagrama ORTEP ¹⁴⁵ de $[(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_3]_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (TrisV ₁₀). Para maior clareza, os átomos de hidrogênio dos componentes orgânicos foram removidos da representação. As elipsoides são apresentadas com 50% de probabilidade.	91
FIGURA 35. Empacotamento cristalino do produto TrisV ₁₀ ao longo do eixo b, mostrando as ligações de hidrogênio que ligam os ânions decavanadato com os cátions trisH ⁺ e moléculas de água. As elipsoides são apresentadas com 50% de probabilidade.	94
FIGURA 36. Diagrama ORTEP ¹⁴⁵ da fórmula unitária de $[(\text{VO}_2)_2(\mu\text{-C}_8\text{H}_{10}\text{NO}_3)_2]$ (PirV ₂). As elipsoides são apresentadas com 50% de probabilidade.....	95
FIGURA 37. Empacotamento cristalino de PirV ₂ , evidenciando as ligações de hidrogênio entre as moléculas. As elipsoides são representadas com 50% de probabilidade.	97
FIGURA 38. Espectro de RPE registrado em banda X para PirV ₂ pulverizado à temperatura ambiente. A linha preta representa o espectro obtido experimentalmente e a linha vermelha representa o espectro simulado.	99
FIGURA 39. Espectros de RPE de TrisV ₁₀ registrados com o produto pulverizado à temperatura ambiente em vários estágios de decomposição: preto = lote recém-sintetizado; vermelho = lote estocado por seis meses; azul = lote estocado por um ano.	100
FIGURA 40. Resultado do tratamento das culturas de <i>E. coli</i> com nicotinamida e isonicotinamida a 1,0 e 10,0 mmol L ⁻¹ . O valor de $0,994 \pm 0,032$ foi tomado como 100% de crescimento das culturas para este ensaio. Uma suspensão das bactérias em solução salina a 0,9% foi empregada para a preparação da cultura controle, conforme descrito na seção 4.5.2.1.	103
FIGURA 41. Avaliação da inibição do crescimento bacteriano provocada por $[\{\text{Na}_6(\text{H}_2\text{O})_{20}\text{V}_{10}\text{O}_{28} \cdot 4\text{H}_2\text{O}\}_n]$ (NaV ₁₀). O valor de DO ₆₀₀ de $1,092 \pm 0,050$ foi tomado como 100% para o tratamento. As concentrações finais do composto no meio de cultura foram de 0,004, 0,017, 0,42, 0,83 e 1,67 mmol L ⁻¹	104
FIGURA 42. Avaliação da inibição do crescimento bacteriano provocada por $[\{\text{Na}_6(\text{H}_2\text{O})_{20}\text{V}_{10}\text{O}_{28} \cdot 4\text{H}_2\text{O}\}_n]$ (NaV ₁₀), $(1,3\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (NicoV ₁₀) e $(1,4\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (IsoV ₁₀). Valores de DO ₆₀₀ de $1,092 \pm 0,050$, $1,107 \pm 0,024$ e $1,077 \pm 0,030$ foram tomados como 100% para os	

respectivos tratamentos (dados não mostrados). A concentração final dos compostos no meio de cultura foi de 0,004, 0,017, 0,42, 0,83 e 1,67 mmol L ⁻¹ . Os ensaios foram feitos no mínimo em triplicata.....	105
FIGURA 43. Resultado do abaixamento de pH sobre o crescimento de culturas de <i>E. coli</i> . Neste experimento, água com pH ajustado para 4,8 foi adicionada à cultura. O valor de $0,915 \pm 0,113$ foi tomado como 100% de crescimento para este ensaio.	106
FIGURA 44. Princípio de funcionamento da sonda JC-1 junto à membrana de uma célula sadia. Em condição de acoplamento da membrana plasmática, as moléculas da sonda JC-1 encontram-se agregadas, emitindo fluorescência na região do vermelho (cerca de 590 nm); quando há perda do potencial de membrana, a sonda permanece em sua forma monomérica, a qual emite fluorescência na região do verde (cerca de 527 nm).	109
FIGURA 45. Gráfico mostrando a razão entre a fluorescência captada pelos detectores FL2 (585 nm) e FL1 (530 nm) após tratamento das culturas bacterianas com salina a 0,9%, IsoV ₁₀ , NicoV ₁₀ e NaV ₁₀ a 5,0 mmol L ⁻¹ e adição da sonda JC-1. As barras de erros não são apresentadas pois o ensaio foi realizado apenas uma vez até o momento.....	110
FIGURA 46. Estrutura do iodeto de propídio evidenciando a sua natureza dicatiónica, e representação esquemática do seu modo de intercalação no DNA. .	111
FIGURA 47. Porcentagem da população de células marcadas com iodeto de propídio (IP+) após tratamento das culturas bacterianas com salina a 0,9%, IsoV ₁₀ , NicoV ₁₀ e NaV ₁₀ a 5,0 mmol L ⁻¹ e adição de IP.	112
FIGURA 48. Diagramas representativos das intensidades de fluorescência medidas na região do vermelho após tratamento das culturas bacterianas com salina a 0,9%, IsoV ₁₀ , NicoV ₁₀ e NaV ₁₀ a 5,0 mmol L ⁻¹ e adição de IP. Na coluna da esquerda, a representação através de diagrama de dispersão mostra o deslocamento da população de células marcadas com IP (mancha mais escura) para cima (maior intensidade de fluorescência) mediante tratamento com IsoV ₁₀ e NicoV ₁₀ , o que indica maior incorporação do IP por essas células em relação ao controle. Na coluna da direita são apresentados os gráficos de linhas gerados a partir dos histogramas produzidos pelas subpopulações de células. A população de células do controle está representada em preto e a população de células que receberam os respectivos tratamentos está representada em vermelho. O	

deslocamento da banda em vermelho para a direita é indicativo do aumento da intensidade de fluorescência captada pelo detector FL2. *FL2-H = intensidade da fluorescência na região do vermelho.....	113
FIGURA 49. Esquema de funcionamento da sonda fluorescente DCFH-DA.	115
FIGURA 50. Diagramas representativos das intensidades de fluorescência medidas na região do verde após tratamento das culturas bacterianas com salina a 0,9%, IsoV ₁₀ , NicoV ₁₀ e NaV ₁₀ a 5,0 mmol L ⁻¹ e adição de DCFH-DA. Na coluna da esquerda, a representação através de diagrama de dispersão mostra o deslocamento da população de células marcadas com DCFH-DA (mancha mais escura) para cima (maior intensidade de fluorescência) mediante o tratamento com IsoV ₁₀ e NicoV ₁₀ , o que indica maior concentração de DCF (sonda oxidada) nessas células em relação ao controle. Na coluna da direita, a população de células controle está representada em preto e a população de células que receberam os respectivos tratamentos está representada em verde. O deslocamento da banda em verde para a direita é indicativo do aumento da intensidade de fluorescência captada por FL1. *FL1-H = intensidade da fluorescência na região do verde.	116
FIGURA 51. Gráfico de barras comparativo das medianas de intensidade de fluorescência entre o controle e as células tratadas com IsoV ₁₀ , NicoV ₁₀ e NaV ₁₀ a 5,0 mmol L ⁻¹ . Barras de erros não são mostradas pois o ensaio só pôde ser realizado uma vez até o momento.....	117
FIGURA 52. Alvos propostos para a ação do ânion decavanadato sobre células procarióticas. 1 – canais iônicos de membrana; ¹⁰⁷ 2 – ATPases ABC; ²⁰⁸ 3 – bicamada fosfolipídica da membrana celular; ²⁰¹ 4 – enzimas e metabólitos responsáveis pela proteção da célula contra o estresse oxidativo; ² 5 – material genético da bactéria, não protegido por envelope nuclear. ²⁰⁸	119

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. POTENCIAL APLICAÇÃO MEDICINAL DE DIFERENTES DECAVANADATOS	37
TABELA 2. LISTA DE REAGENTES UTILIZADOS EM TODAS AS ETAPAS DESTE TRABALHO E ESPECIFICAÇÕES DO FABRICANTE.....	52
TABELA 3. SONDAS EMPREGADAS NOS ENSAIOS POR CITOMETRIA DE FLUXO	58
TABELA 4. ATRIBUIÇÃO TENTATIVA DAS BANDAS REGISTRADAS (cm^{-1}) NOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO OBTIDOS PARA NicoV ₁₀ E IsoV ₁₀	65
TABELA 5. ATRIBUIÇÃO TENTATIVA DAS BANDAS REGISTRADAS NO ESPECTRO DE ESPALHAMENTO RAMAN PARA NicoV ₁₀ E IsoV ₁₀	67
TABELA 6. DADOS CRISTALOGRAFÍCOS E DE REFINAMENTO PARA (1,3-C ₆ H ₇ N ₂ O) ₄ [H ₂ V ₁₀ O ₂₈]·2H ₂ O·2C ₆ H ₆ N ₂ O (NicoV ₁₀) E (1,4-C ₆ H ₇ N ₂ O) ₄ [H ₂ V ₁₀ O ₂₈]·2C ₆ H ₆ N ₂ O (IsoV ₁₀)	70
TABELA 7. COMPRIMENTOS (Å) E ÂNGULOS (°) DE LIGAÇÃO SELECIONADOS PARA NicoV ₁₀ E IsoV ₁₀ COM DESVIOS-PADRÃO ESTIMADOS ENTRE PARÊNTESES.....	71
TABELA 8. VALORES DOS PKas DAS ESPÉCIES ENVOLVIDAS NOS PRODUTOS NicoV ₁₀ E IsoV ₁₀	74
TABELA 9. COMPRIMENTOS (Å) E ÂNGULOS (°) MÉDIOS DAS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO ENVOLVENDO O ÂNION DECAVANADATO EM NicoV ₁₀ E IsoV ₁₀ . ..	76
TABELA 10. RESULTADO DA ANÁLISE ELEMENTAR PARA OS PRODUTOS NicoV ₁₀ E IsoV ₁₀	76
TABELA 11. ATRIBUIÇÃO TENTATIVA DAS BANDAS OBSERVADAS NOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PARA OS PRODUTOS TrisV ₁₀ E PirV ₂	89
TABELA 12. DADOS CRISTALOGRAFÍCOS DE REFINAMENTO PARA [(HOCH ₂) ₃ CNH ₃] ₄ [H ₂ V ₁₀ O ₂₈]·10H ₂ O (TrisV ₁₀).....	92
TABELA 13. COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO (Å) E ÂNGULOS (°) SELECIONADOS PARA [(HOCH ₂) ₃ CNH ₃] ₄ [H ₂ V ₁₀ O ₂₈]·10H ₂ O (TrisV ₁₀).....	92
TABELA 14. DADOS CRISTALOGRAFÍCOS DE REFINAMENTO PARA PirV ₂ . ..	95

TABELA 15. COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO (Å) E ÂNGULOS (°) SELECIONADOS PARA $[(VO_2)_2\mu_2-(C_8H_{10}NO_3)_2]$ (PirV ₂)	96
TABELA 16. RESULTADOS DE ANÁLISE ELEMENTAR PARA OS PRODUTOS TrisV ₁₀ E PirV ₂	98
TABELA 17. PARÂMETROS DE RPE OBTIDOS ATRAVÉS DA SIMULAÇÃO DO ESPECTRO DE PirV ₂	99

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1	Tratamento das culturas bacterianas com a solução salina (controle negativo) e com concentrações crescentes (de 0,025 a 10 mmol L ⁻¹) dos compostos NaV ₁₀ , IsoV ₁₀ e NicoV ₁₀	59
ESQUEMA 2.	Preparo das amostras e tratamento com as sondas fluorescentes para leitura no citômetro de fluxo. Até a etapa 3, as amostras passaram pelo mesmo preparo. O esquema é apresentado utilizando-se a amostra controle como exemplo, ou seja, sem considerar a adição de NaV ₁₀ , NicoV ₁₀ ou IsoV ₁₀	61
ESQUEMA 3.	Propostas de síntese de um decavanadato contendo nicotinamida protonada como contraíon, evidenciando as desvantagens de cada metodologia. Reações similares foram realizadas com a isonicotinamida.	63

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

V ₁₀	Decavanadato, [H _n V ₁₀ O ₂₈] ⁿ⁻⁶
RPE	Ressonância Paramagnética Eletrônica
POM	Polioxometalato(s)
POV	Polioxovanadato(s)
Metf	Metformina
ERO	Espécie(s) Reativa(s) de Oxigênio
ORTEP	<i>Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot</i>
DMAPH	4-dimetilaminopiridínio
CCDC	Banco de dados cristalográficos de Cambridge (do inglês <i>Cambridge Crystallographic Data Centre</i>)
RMN de ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ⁵¹ V	Ressonância Magnética Nuclear de Vanádio
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo em sua forma protonada
NADP	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato em sua forma protonada
GRAS	<i>Generally Recognized as Safe</i>
Tris	2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol
TG	Análise termogravimétrica
DRX	Difratometria de Raios X
JCPDS	<i>Joint Committee on Powder Diffraction Standards</i>
IP	Iodeto de propídio
FCCP	Carbonilcianeto- <i>p</i> -trifluorometoxifenil-hidrazona
DCFH-DA	Diacetato de 2',7'-diclorodi-hidrofluoresceína
JC-1	Iodeto de 5,5',6,6'-tetracloro-1,1',3,3'-tetraetilbenzimidazolil-carbocianina
LA	Meio sólido Luria-Bertani
LB	Meio líquido Luria-Bertani
dmso	Dimetilsulfóxido
DO	Densidade óptica
PBS	Tampão fosfato-salino

nicoH ⁺	Cátion nicotinamídio
isoH ⁺	Cátion isonicotinamídio
TCLM	Transição de transferência de carga do ligante para o metal
trisH ⁺	Cátion tris protonado
GI ₅₀	Concentração que causa a inibição do crescimento de 50% da cultura bacteriana

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	26
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1	O VANÁDIO COMO UM ELEMENTO BIOATIVO	27
2.2	O VANÁDIO E SUA POTENCIAL AÇÃO FARMACOLÓGICA	30
2.3	O ÂNION DECAVANADATO COMO UM POLIOXOMETALATO DE INTERESSE MEDICINAL	32
2.4	MATERIAIS HÍBRIDOS ORGÂNICO-INORGÂNICOS BASEADOS NO DECAVANADATO E SEU POTENCIAL MEDICINAL.....	39
2.5	A ESCOLHA DOS COMPONENTES ORGÂNICOS E DO MODELO BIOLÓGICO AVALIADO	44
3	OBJETIVOS.....	47
3.1	OBJETIVO GERAL.....	47
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
4	MATERIAIS E MÉTODOS	48
4.1	DESCRIÇÃO DA APARELHAGEM E TÉCNICAS DE ANÁLISE	48
4.1.1	Titulação redox	48
4.1.2	Gravimetria.....	48
4.1.3	Análise elementar.....	48
4.1.4	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV).....	48
4.1.5	Espectroscopia Raman.....	49
4.1.6	Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta/visível (UV/Vis)	49
4.1.7	Difratometria de raios X de pó (DRX de pó).....	49
4.1.8	Difratometria de raios X de monocristal (DRX de monocristal)	49
4.1.9	Ressonância paramagnética eletrônica (RPE)	50
4.1.10	Ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{51}V	50
4.1.11	Análise termogravimétrica	51
4.2	CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS E GENERALIDADES	51
4.3	REAGENTES E SOLVENTES.....	51
4.3.1	Preparação do meio sólido de cultura LA	52
4.3.2	Preparação do meio líquido de cultura LB	52
4.3.3	Preparação da solução salina	53
4.3.4	Estoque da estirpe bacteriana	53

4.3.5	Antibiótico.....	53
4.4	SÍNTESES.....	53
4.4.1	Preparação de $[\{\text{Na}_6(\text{H}_2\text{O})_{20}\text{V}_{10}\text{O}_{28}\cdot 4\text{H}_2\text{O}\}_n]$ (NaV₁₀)	53
4.4.2	Preparação de $(1,3\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}\cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (NicoV₁₀).....	54
4.4.3	Preparação de $(1,4\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (IsoV₁₀).....	55
4.4.4	Preparação de $[(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_3]_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (TrisV₁₀).....	55
4.4.5	Preparação de $[(\text{VO}_2)_2\mu_2\text{-(C}_8\text{H}_{10}\text{NO}_3)_2]$ (PirV₂)	56
4.5	AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS DECAVANADATOS NicoV₁₀ E IsoV₁₀ SOBRE CULTURAS DE <i>E. coli</i>	57
4.5.1	Técnicas utilizadas nos ensaios biológicos.....	57
4.5.1.1	Análise espectrofotométrica da densidade óptica (DO) das culturas bacterianas.....	57
4.5.1.2	Medidas de fluorescência por citometria de fluxo	58
4.5.2	Metodologia adotada para os ensaios biológicos	58
4.5.2.1	Ensaio de inibição do crescimento das culturas de <i>E. coli</i>	58
4.5.2.2	Avaliação do potencial de membrana ($\Delta\Psi$) por citometria de fluxo.....	59
4.5.2.3	Efeito dos decavanadatos sobre a permeabilidade da membrana celular	60
4.5.2.4	Estimativa da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) por citometria de fluxo	60
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5.1	METODOLOGIA DE SÍNTESE.....	62
5.1.1	Preparação de NicoV₁₀ e IsoV₁₀	62
5.2	CARACTERIZAÇÃO DOS DECAVANADATOS CRISTALIZADOS COM NICOTINAMIDA E ISONICOTINAMIDA.....	64
5.2.1	Caracterização no estado sólido.....	64
5.2.1.1	Caracterização por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV).....	64
5.2.1.2	Espectroscopia de espalhamento Raman	66
5.2.1.3	Caracterização por difratometria de raios X de monocristal (DRX de monocristal).....	68
5.2.1.4	Análise elementar.....	76
5.2.1.5	Caracterização por análise termogravimétrica.....	77

5.2.2	Caracterização em solução	80
5.2.2.1	Caracterização por ressonância magnética nuclear (RMN de ^1H e de ^{51}V)	80
5.2.2.1.1	RMN de ^1H	80
5.2.2.1.2	RMN de ^{51}V em D_2O	82
5.2.2.2	Caracterização por ressonância paramagnética eletrônica (RPE)	84
5.2.2.3	Caracterização por espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta- visível (UV-Vis)	85
5.3	CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS CONTENDO TRIS E PIRIDOXINA	87
5.3.1	Sínteses	87
5.3.2	Espectroscopia vibracional (IV e Raman)	88
5.3.3	Caracterização por difratometria de raios X de monocristal (DRX)	90
5.3.3.1	Análise de TrisV₁₀	90
5.3.3.2	Análise de PirV₂	94
5.3.4	Análise elementar	97
5.3.5	Caracterização por ressonância paramagnética eletrônica (RPE)	98
5.3.6	Considerações sobre os sistemas de TrisV₁₀ e PirV₂	101
5.4	AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS DECAVANADATOS NicoV₁₀ E IsoV₁₀ SOBRE CULTURAS DE <i>E. coli</i>	101
5.4.1	Ensaio de inibição do crescimento das culturas de <i>E. coli</i>	102
5.4.2	Estudo do efeito dos decavanadatos sobre as culturas de <i>E. coli</i> por citometria de fluxo	107
5.4.2.1	Avaliação do potencial de membrana ($\Delta\Psi$) por citometria de fluxo	108
5.4.2.2	Efeito dos decavanadatos sobre a permeabilidade da membrana celular	111
5.4.2.3	Estimativa da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) por citometria de fluxo	114
5.5	CONSIDERAÇÕES SOBRE A AÇÃO DOS DECAVANADATOS SOBRE AS CULTURAS DE <i>E. coli</i>	118
6	CONCLUSÃO	121
	REFERÊNCIAS	124
	ANEXO 1	141

ANEXO 2 142

ANEXO 3 154

ANEXO 4 168

ANEXO 5 180

1 INTRODUÇÃO

O emprego do vanádio para fins medicinais foi avaliado pela primeira vez no final do século XIX,¹ mas estudos mais aprofundados das suas aplicações biológicas e farmacológicas^{2; 3} só ocorreram na década de 1970, após a descoberta de que o vanádio(V) é um potente inibidor de ATPases.⁴ Atualmente, dentre os compostos de vanádio mais conhecidos destaca-se o decavanadato, $[H_nV_{10}O_{28}]^{(6-n)-}$ (V_{10}) - que é o polioxovanadato mais estável em meio ácido - por suas reconhecidas atividades antidiabética,^{5; 6} antitumoral,^{7; 8} antibiótica^{9; 10} e antiviral.¹¹

Relatos recentes mostram que associações entre V_{10} e cátions orgânicos potencializam as ações antitumoral e antidiabética dos componentes isolados.^{5; 6; 7; 8} Há também resultados promissores sobre os efeitos antibióticos destas associações (decavanadato com contraíons orgânicos) sobre bactérias *Gram*-positivas.^{9; 10; 12} Acredita-se que os cátions contribuam para o aumento da lipofilicidade do ânion, melhorando a sua interação com os componentes da membrana plasmática. Apesar desta proposta, estudos que aprofundem o conhecimento do papel destes cátions sobre a atividade do ânion, principalmente em bactérias, ainda são escassos.

No presente trabalho sintetizamos o decavanadato com contraíons orgânicos que são endógenos ou amplamente utilizados em ensaios biológicos. Os produtos foram caracterizados por uma variedade de técnicas analíticas e utilizados em ensaios com culturas da bactéria *Gram*-negativa *Escherichia coli* como sistema-modelo. Tais ensaios empregaram principalmente a técnica de citometria de fluxo, a qual permitiu avaliar comparativamente a toxicidade do V_{10} na presença e na ausência dos cátions orgânicos, assim como a produção de espécies reativas de oxigênio e a manutenção (ou desestabilização) do potencial de membrana sob ação do polioxovanadato.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

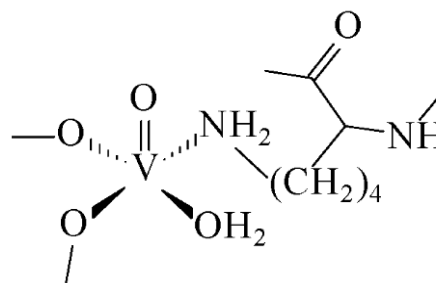
2.1 O VANÁDIO COMO UM ELEMENTO BIOATIVO

O vanádio é um metal pertencente à primeira série de transição que pode ser encontrado no petróleo bruto, em águas oceânicas e no solo; neste último caso, principalmente de regiões vulcânicas.^{1; 13} O estado de oxidação do metal pode variar de $-I$ a $+V$; no entanto, em ambientes aquosos naturais, observa-se a ocorrência dos estados de oxidação mais altos. Nestas condições, o vanádio pode ser visto como um ácido duro de Pearson, formando compostos principalmente com ligantes duros contendo o oxigênio como átomo doador.¹⁴ O elemento encontra-se disponível para os organismos vivos na forma do par redox $H_2V^VO_4^- / V^{IVO}^{2+}$,¹⁵ em concentrações de cerca de $3,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$,¹ e é essencial para alguns organismos marinhos, tais como algas e ascídias (FIGURA 1a).

Ascídias e algumas poliquetas são capazes de capturar e acumular o vanádio(V)¹³ até uma concentração de $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ em seus vacúolos celulares.^{1; 16} Proteínas citoplasmáticas denominadas vanabinas (FIGURA 1b) são então responsáveis pela redução do vanádio(V) a vanádio(IV), que posteriormente é reduzido e armazenado como vanádio(III).¹⁶ O mecanismo pelo qual o V^{IV} presente no citoplasma é reduzido a V^{III} e a função que o metal desempenha nesses organismos ainda permanecem desconhecidos.^{1; 16}



(a)



(b)

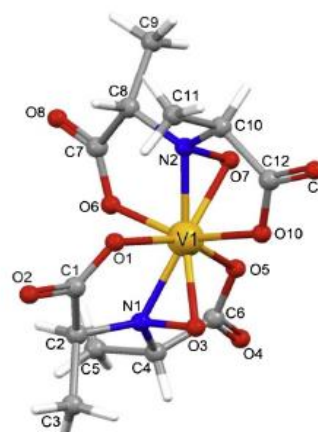
FIGURA 1. (a) Exemplo de um animal da espécie *Ascidia gemmata*, considerado o organismo com a maior capacidade de acúmulo de vanádio da natureza. Ele pode atingir uma concentração do metal 10^7 vezes superior àquela encontrada nos oceanos. (b) Provável ambiente de coordenação do grupo oxidovanádio(IV), vanadila, evidenciando a ligação de um resíduo de lisina de uma vanabina (*Ascidia sydneyensis samea*).¹⁷

FONTE: UEKI, T. (2015)¹⁶ e HAMADA, T. (2005).¹⁷

Alguns fungos do gênero *Amanita* produzem uma metalobiomolécula de baixa massa molecular denominada amavadina (FIGURA 2).^{1; 18} Ela possui um centro de vanádio(IV) em geometria dodecaédrica distorcida, atípica para metais da primeira série de transição,^{18; 19} e difere também de outros complexos de vanádio(IV) devido à ausência da ligação V=O. Sua atividade biológica ainda não foi completamente elucidada; no entanto, devido à fácil interconversão do vanádio entre os estados de oxidação +IV e +V,¹⁸ acredita-se que apresente uma função de transferência de elétrons, atuando na proteção do fungo contra o estresse oxidativo e na oxidação da água.²⁰



(a)



(b)

FIGURA 2. (a) Fungo do gênero *Amanita muscaria*. (b) Estrutura molecular do complexo amavadina. FONTE: Adaptado de POMBEIRO, A. J. L. (2013).¹⁸

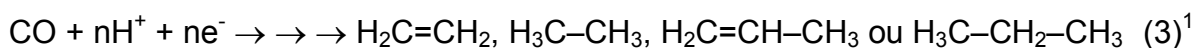
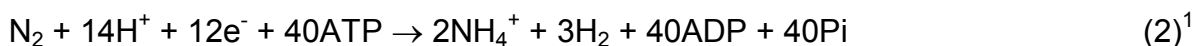
O elemento faz parte do sítio ativo de algumas enzimas, participando tanto de processos de redução quanto de oxidação.^{1; 21} Um exemplo é a haloperoxidase dependente de vanádio, presente em algumas algas marinhas, fungos, líquens e bactérias.¹ Essa classe de enzimas oxida haletos a ácidos hipo-halosos (EQUAÇÃO 1) via um mecanismo que envolve também a redução de H₂O₂ a água.



Onde X⁻ = Cl⁻, Br⁻, I⁻ (ou o pseudo-haleta SCN⁻).²²

O sistema biológico contendo vanádio mais complexo, intrigante e desafiador é o da nitrogenase alternativa de vanádio, V-N₂ase. Esta enzima é produzida em meios de cultura de bactérias fixadoras de nitrogênio (*Azotobacter vinelandii* e *A.*

chroococcum, por exemplo, entre diversas outras espécies) e em cianobactérias (como *Anabaenae*) cultivadas em meios ricos em vanádio. Além da redução da molécula de N_2 (EQUAÇÃO 2), a enzima também é capaz de promover a redução do CO para produzir vários hidrocarbonetos de baixa massa molecular,²³ conforme apresentado de forma genérica na EQUAÇÃO 3.



Onde: - Pi é o fosfato em sua forma livre
 - n corresponde ao número necessário de elétrons e prótons para formar cada hidrocarboneto

Embora a estrutura do cofator da V-N₂ase não esteja totalmente elucidada, estudos espectroscópicos (XAS, EXAFS, RPE e Mössbauer) apontam para um arcabouço semelhante àquele obtido para o cofator da nitrogenase clássica de molibdênio.²⁴ A estrutura proposta apresenta um centro de vanádio em estado de oxidação baixo, provavelmente +II, ligado a um cluster contendo sete átomos de Fe unidos por pontes sulfeto (FIGURA 3).²⁴ Esta estrutura contém ainda um átomo central de massa atômica baixa, que se acredita corresponder a um ânion carbeto em ponte, μ_6-C^{4-} .²⁵

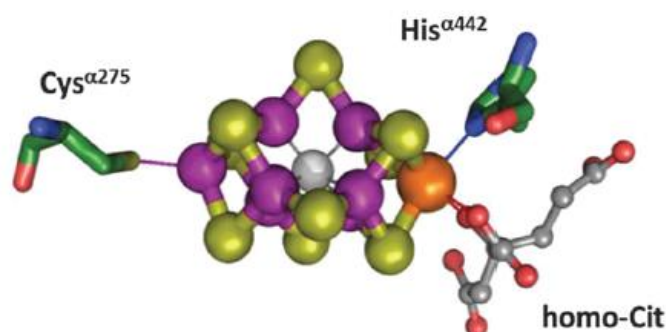


FIGURA 3. Estrutura de bola e bastão do cluster metálico da VN₂ase sugerida por XAS-EXAFS. São representados também os resíduos de cisteína, histidina e homocitrato da apoenzima que se ligam ao cluster. A esfera laranja corresponde ao centro de vanádio(II), as esferas roxas são correspondentes aos sete centros de ferro conectados entre si por pontes sulfeto (esferas amarelas). A esfera cinza no centro constitui um ânion carbeto que se acredita fazer ponte entre seis dos átomos de Fe da estrutura. XAS-EXAFS = X-ray Absorption Spectroscopy-Extended X-ray Absorption Fine Structure.

FONTE: REHDER, D. (2015).²⁴

2.2 O VANÁDIO E SUA POTENCIAL AÇÃO FARMACOLÓGICA

Apesar de sua essencialidade ser comprovada em muitos seres vivos, o papel que o vanádio desempenha em organismos superiores ainda é alvo de muitas contradições.^{26; 27; 28; 29} Se por um lado o vanádio tem sido associado a um possível desenvolvimento de distúrbios respiratórios e cardiovasculares,^{28; 30; 31; 32} por outro acredita-se que esse elemento seja requerido em pequenas quantidades para que o metabolismo celular de mamíferos opere regularmente.^{30; 31; 32} Relatos recentes de que a deficiência do elemento gera má formação óssea³³ e causa um mau funcionamento da tiroide e do metabolismo da glicose e lipídios³⁴ têm levado a um maior reconhecimento da sua importância nutricional³⁵ e farmacológica.³⁶

As semelhanças entre os íons vanadato, $[\text{VO}_4]^{3-}$, e fosfato, $[\text{PO}_4]^{3-}$ (ambos são tetraédricos, possuem a mesma carga, formam oligômeros e são provenientes de ácidos que possuem valores de pKa semelhantes)^{3; 37} incentivou a investigação dos efeitos do vanadato sobre a atividade de enzimas dependentes de fosfato,³² bem como o seu posterior emprego na medicina.¹

Nas últimas décadas, muitos complexos de vanádio têm sido avaliados em sua ação antidiabética, anticâncer, antiviral e antiparasitária. O primeiro complexo de vanádio a ser empregado com efeitos potencializadores da ação da insulina foi o bis(maltolato)oxovanádio(IV), conhecido como BMOV (FIGURA 4a).³⁸ Variações na estrutura dos ligantes produziram o análogo bis(etilmaltolato)oxovanádio(IV) (FIGURA 4b),³² que chegou a ser avaliado em estudos de fase clínica II. Nestes sistemas o mecanismo da ação antidiabética é bastante complexo e envolve a perda dos ligantes dos complexos já no trato gastrointestinal. A inibição da tirosina fosfatase ocorre após a formação de um oxocomposto de vanádio(V) no meio intracelular, possivelmente vanadato, que mantém os receptores de insulina fosforilados e ativos na captação da glicose.^{4; 32}

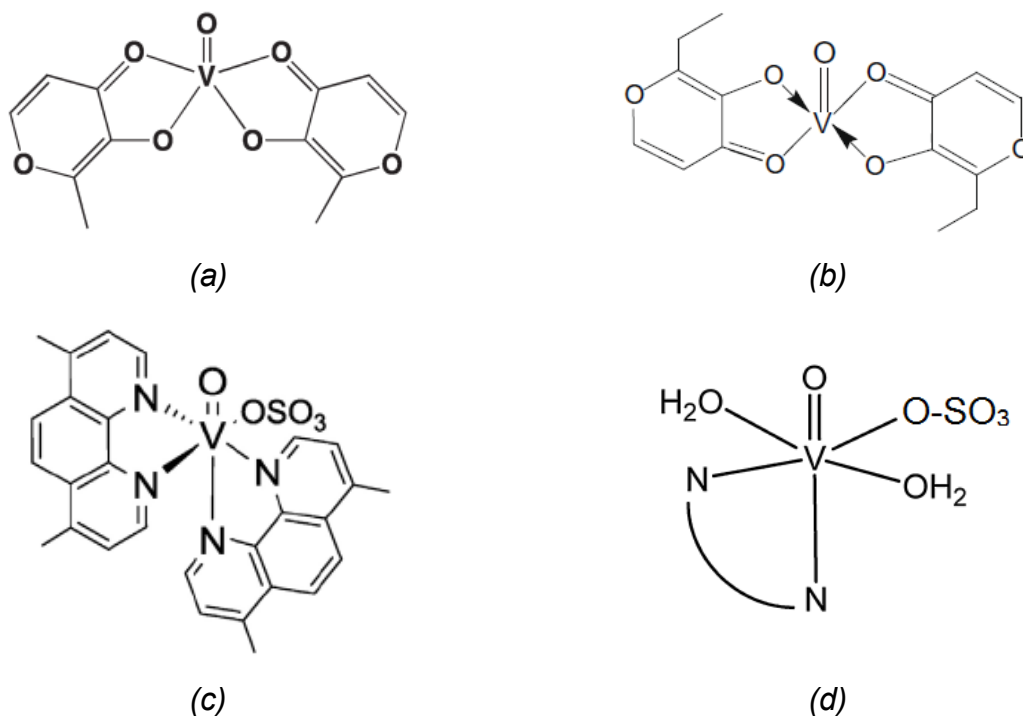


FIGURA 4. Estruturas de alguns dos compostos de vanádio citados. (a) bis(maltolato)oxovanádio(IV) (BMOV); (b) bis(etilmaltolato)oxovanádio(IV) (BEOV); (c) metvan; (d) estrutura dos compostos de fórmula geral $[V^{IV}O(SO_4)(H_2O)_2(NN)]$ utilizados em ensaios contra o *Trypanosoma cruzi*.

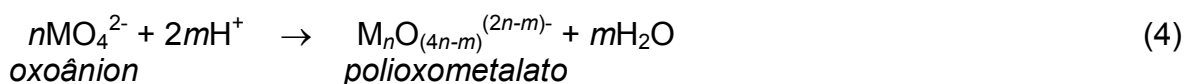
FONTE: CRANS, D. (2012);³⁹ THOMPSON, K. H. (2009);⁴⁰ GAMBINO, D. (2015);³² PESSOA, J. C. (2014).⁴¹

O complexo bis(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)sulfato-oxovanádio(IV), ou metvan, forneceu os resultados antitumorais mais promissores até o momento (FIGURA 4c).^{32; 42} Em ensaios pré-clínicos, o metvan demonstrou eficácia contra 25 linhagens de células tumorais humanas. Sua toxicidade frente a células cancerosas está associada à apoptose induzida pela perda do potencial de membrana mitocondrial e pela geração de espécies reativas de oxigênio.^{32; 42}

Mais recentemente, uma série de compostos de oxovanádio(IV) com ligantes derivados da fenantrolina exibiu atividade contra o *Trypanosoma cruzi*, o agente etiológico da Doença de Chagas (FIGURA 4d).⁴³ Os complexos exibiram atividade semelhante àquela do Nifurtimox, a droga de referência comercializada. Estudos por microscopia de força atômica sugeriram que o principal mecanismo de ação envolveria a interação do complexo com as fitas de DNA do *T. cruzi*, provocando mudanças em sua estrutura terciária.⁴³

2.3 O ÂNION DECAVANADATO COMO UM POLIOXOMETALATO DE INTERESSE MEDICINAL

Os polioxometalatos, POM, são agregados oligoméricos de cátions de metais de transição, em especial V, Nb, W e Mo, em estados de oxidação altos, unidos por grupos oxo em ponte.⁴⁴ Eles são geralmente formados em solução aquosa quando oxoânions MO_4^{2-} são protonados e sofrem reações de condensação e/ou policondensação, dando origem a espécies mais complexas, $\text{M}_n\text{O}_{(4n-m)}^{(2n-m)-}$, em que o grau de condensação é usualmente maior do que 6 ($n \geq 6$) (EQUAÇÃO 4).⁴⁵



Na maioria das vezes, os POM são preparados em uma única etapa (*one-pot synthesis*), gerando uma diversidade inigualável de padrões estruturais, podendo apresentar até 368 centros metálicos em um único agregado.^{46; 47} Os POM têm sido subdivididos em grandes classes de acordo com o arranjo estrutural e a presença ou não de heteroátomos. A FIGURA 5 apresenta alguns padrões estruturais mais comuns, sendo que os poliedros nas representações podem exibir vértices, arestas ou faces em comum.⁴⁸

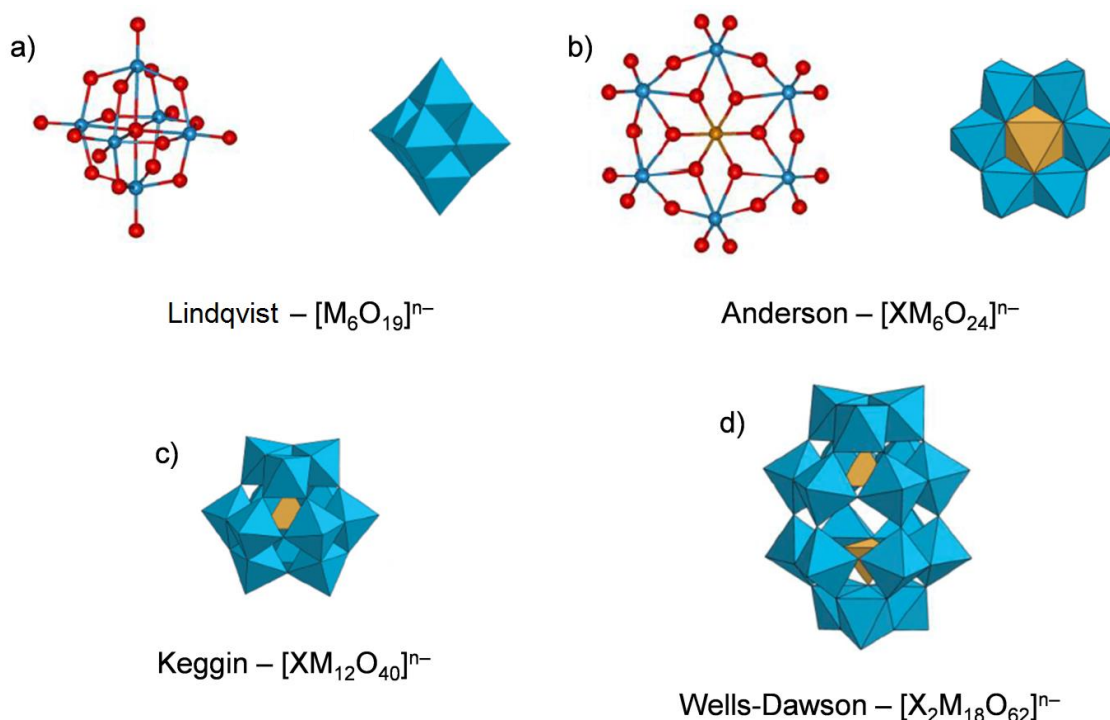


FIGURA 5. Representação de bolas e varetas e representação de poliedros dos polioxoânions: (a) Lindqvist, com fórmula geral $[M_6O_{19}]^{n-}$, (b) Anderson, com fórmula geral $[XM_6O_{24}]^{n-}$, representação de poliedros de estruturas de (c) Keggin, com fórmula geral $[XM_{12}O_{40}]^{n-}$ e (d) Wells-Dawson, com fórmula geral $[X_2M_{18}O_{62}]^{n-}$; onde M (azul) = W, Mo ou V, os oxigênios dos grupos oxo estão em vermelho e X = átomos dos grupos principais em amarelo. Nas representações de poliedros, o metal de transição encontra-se no centro de cada poliedro azul e os vértices representam átomos de oxigênio dos grupos oxo.

FONTE: LOPEZ, X. (2012).⁴⁸

Embora a maioria absoluta das aplicações dos POM tenha sido relacionada à catálise da oxidação de substratos orgânicos, em anos recentes outros campos, tais como as aplicações biomédicas, fotoquímicas, magnéticas, de condutividade iônica e de fenômenos de cooperação eletrônicos, têm passado a receber um grande destaque na literatura.^{46; 49; 50; 51; 52; 53; 54; 55; 56; 57}

As propriedades farmacológicas apresentadas pelos POM incluem ação antidiabética, antibacteriana, antiprotozoária, antiviral e anticâncer.^{58; 59; 60} A compreensão dos mecanismos de ação ainda representa um grande desafio e muitos esforços têm sido realizados no sentido de determinar os possíveis alvos biológicos. Vários estudos indicam que as atividades relatadas acima estão relacionadas principalmente com a inibição de enzimas que são acessíveis em meio intra ou extracelular.⁶¹ Por exemplo, a atividade apresentada pelo decavanadato contra *Leishmania* foi associada à inibição da fosfoglicerato mutase (enzima que catalisa a oitava etapa da glicólise) e de várias enzimas fosfatases.⁵⁸ Mais recentemente, a inativação da transcriptase reversa (enzima que catalisa a

transcrição reversa de um DNA complementar a partir de uma fita de RNA) e da DNA polimerase (enzima que participa da síntese da dupla fita de DNA) foi correlacionada com a ação antiviral dos POM, e a inibição da *ecto*-nucleotidase (família de enzimas que catalisa a conversão de nucleotídeos em nucleosídeos) e da proteína quinase tem sido avaliada como responsável pela ação antibacteriana e anticâncer.⁵⁹

Os polioxovanadatos (POV) são considerados uma subclasse importante de POM que, quando comparada aos polioxotungstatos e polioxomolibdatos, tem sido menos explorada.^{62; 63} Exemplos destes agregados são encontrados em uma grande variedade de padrões estruturais devido à habilidade do vanádio em adotar diferentes geometrias (tetraédrica, piramidal de base quadrada e octaédrica, entre outras), diversos estados de oxidação e de se ligar aos grupos oxo no modo terminal ou através de pontes (principalmente $-\mu_2$ ou $-\mu_3$), formando agregados totalmente oxidados, totalmente reduzidos ou de valência mista +IV/+V.

Os polioxovanadatos mais comuns são $[V_4O_{12}]^{4-}$,⁶⁴ $[V_5O_{14}]^{3-}$,⁶⁵ $[V_{10}O_{28}]^{6-}$,⁶⁶ $[V_{12}O_{32}]^{4-}$,⁶⁷ $[V_{13}O_{34}]^{3-}$,⁶⁸ $[V_{15}O_{36}]^{5-}$,⁶⁹ $[V_{17}O_{42}]^{4-}$,⁷⁰ $[V_{18}O_{42}]^{12-}$ ⁷¹ e $[V_{34}O_{82}]^{10-}$.⁷² Alguns padrões estruturais comumente encontrados são apresentados na FIGURA 6.

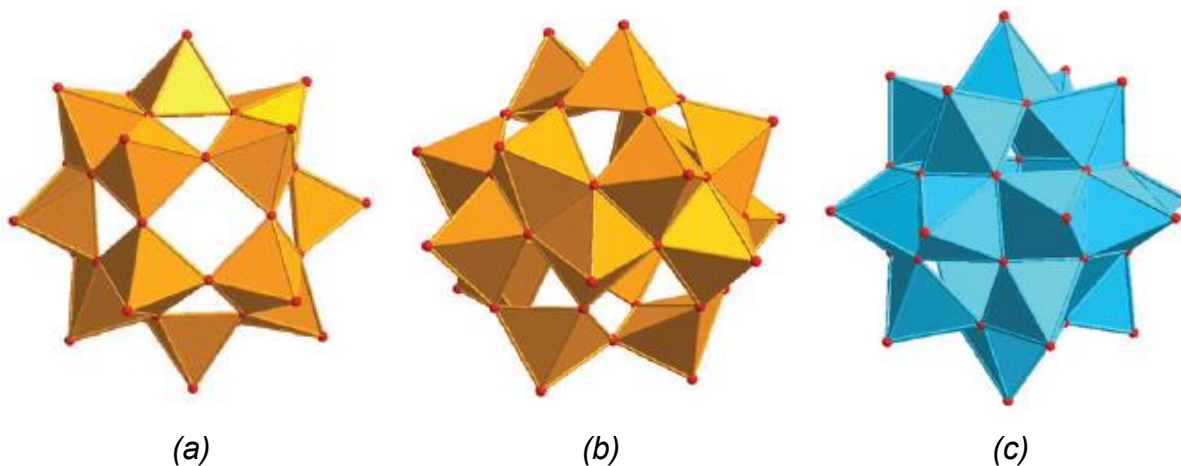


FIGURA 6. Exemplos de estruturas de alguns polioxovanadatos (POV). Os poliedros amarelos representam centros de vanádio(V) e os poliedros azuis representam centros de vanádio(IV). As esferas vermelhas nos vértices dos poliedros representam átomos de oxigênio. (a) $[V_{12}O_{32}]^{4-}$; (b) $[V_{16}O_{42}]^{4-}$; e (c) $[V_{18}O_{42}]^{12-}$.

FONTE: MONAKHOV, K. Y. (2015).⁷³

Uma das peculiaridades das soluções aquosas de vanadatos é a possibilidade de coexistência de diferentes oligômeros, formando um equilíbrio complexo que é determinado pela concentração de vanádio, pelo pH e pela força iônica do meio (FIGURA 7).⁷⁴ As principais formas encontradas em soluções de

ortovanadato são $[\text{H}_2\text{VO}_4]^-$ / $[\text{HVO}_4]^{2-}$ (V_1 e V_1' respectivamente), $[\text{HV}_2\text{O}_7]^{3-}$ (V_2), $[\text{V}_4\text{O}_{12}]^{4-}$ (V_4), $[\text{V}_5\text{O}_{15}]^{5-}$ (V_5) e $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ (V_{10}).^{29; 33; 74; 75}

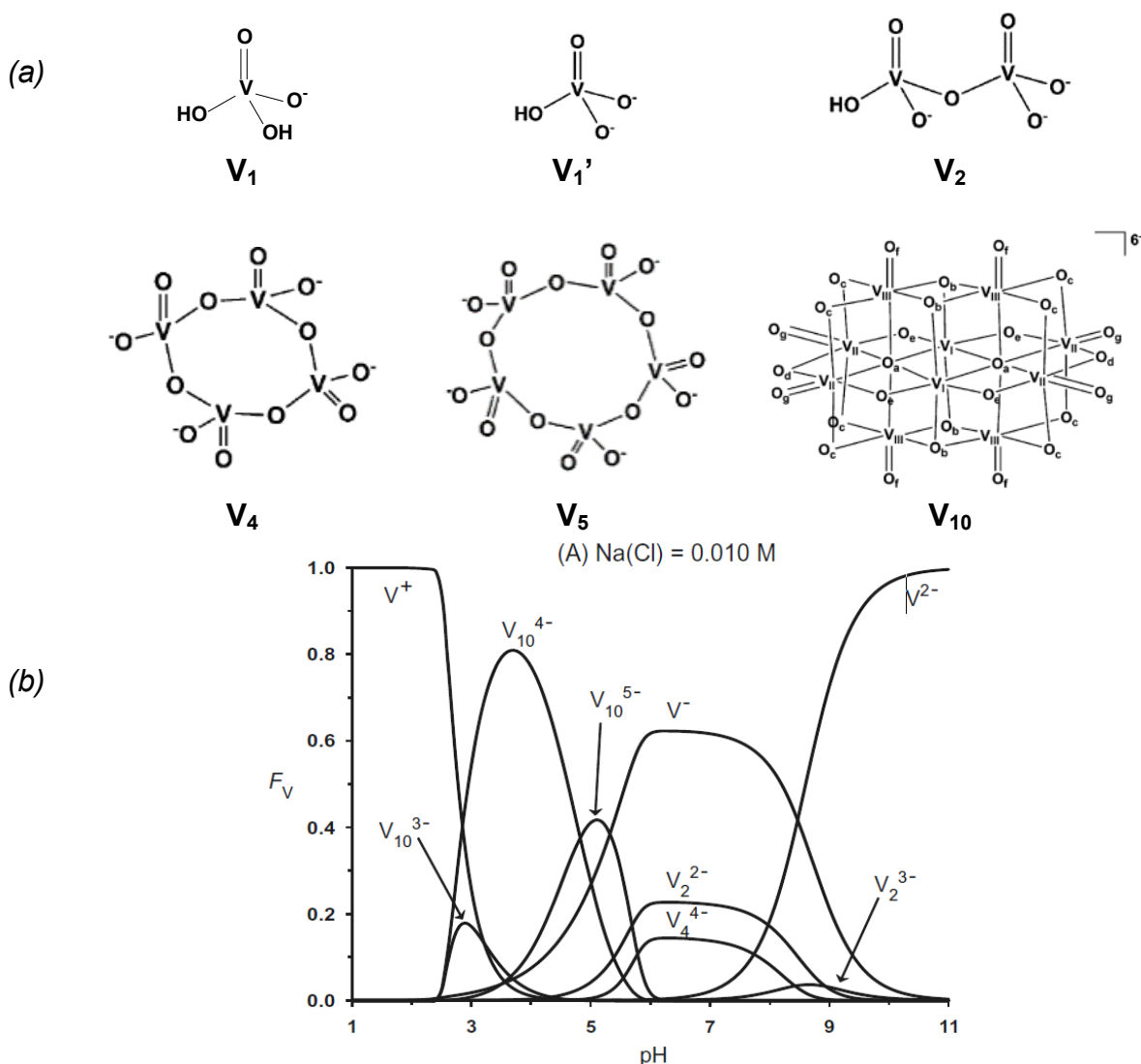


FIGURA 7. (a) Estruturas dos oligômeros de vanádio $[\text{H}_2\text{VO}_4]^-$ / $[\text{HVO}_4]^{2-}$ (V_1 e V_1' respectivamente), $[\text{HV}_2\text{O}_7]^{3-}$ (V_2), $[\text{V}_4\text{O}_{12}]^{4-}$ (V_4), $[\text{V}_5\text{O}_{15}]^{5-}$ (V_5) e $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ (V_{10}). (b) Gráfico relacionando a predominância das diferentes espécies de íons vanadato em diferentes faixas de pH na presença de NaCl aquoso a $0,010 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

FONTE: GORZSAS, A. (2009).⁷⁶

Dentre os polioxovanadatos totalmente oxidados, o ânion decavanadato, $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ (V_{10} , FIGURA 8), é a forma mais estável em condições ácidas (pH 3 a 6), decompondo-se nas demais formas oligoméricas em meio neutro.⁷⁶ Tal decomposição, apesar de ser termodinamicamente favorecida, é lenta, o que confere ao decavanadato um tempo de meia-vida de até 15 h em condições biológicas.^{3; 33; 74; 75}

Os 10 centros de vanádio(V) do V_{10} apresentam geometria octaédrica distorcida devido à presença dos grupos oxo (O^{2-}) em ponte, formando um polioxoânion de alta carga superficial em simetria próxima da D_{2h} (FIGURA 8).^{77; 78} Este agregado pode ser visto como um ácido poliprótico de fórmula geral $[H_nV_{10}O_{28}]^{(6-n)-}$, que varia seu grau de protonação de 0 a 4 em função do pH do meio e em função das espécies que constituem seus contraíons.^{79; 80} O grau de protonação e a posição dos hidrogênios no V_{10} influenciam o arranjo cristalino e a reatividade do decavanadato.

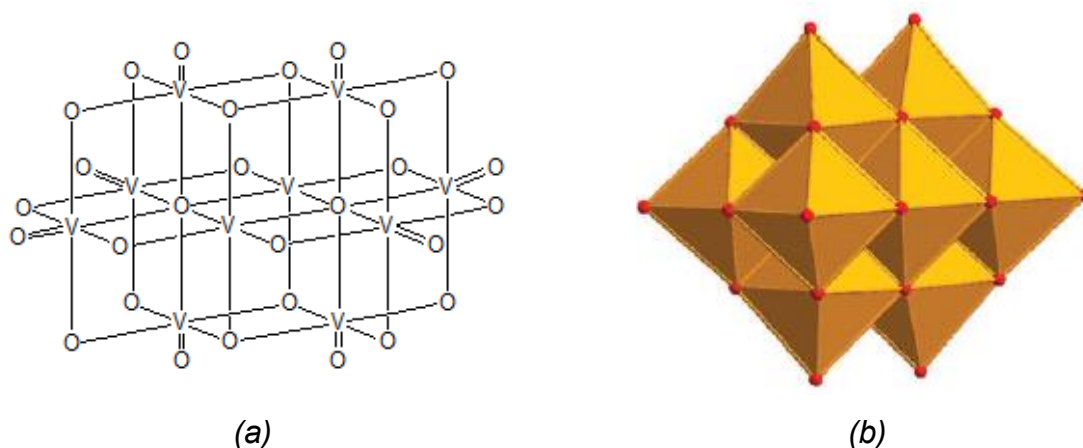


FIGURA 8. (a) Representação estrutural do ânion decavanadato, $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ (V_{10}). (b) Representação de poliedros do V_{10} , em que os centros dos poliedros representam os centros de vanádio(V) e as pequenas esferas vermelhas nos vértices representam os átomos de oxigênio da estrutura do polioxoânion.

FONTE: MONAKHOV, K. Y. (2015).⁷³

A habilidade do V_{10} em interagir de forma intacta com diversas enzimas e proteínas tem sido bem documentada por diversas técnicas, incluindo difratometria de raios X de monocristal (FIGURA 9).⁸¹ Em geral, o modo de interação é bastante ordenado, devido à possibilidade de formação de ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas do ânion com as biomoléculas, potencializando um efeito biológico quando comparado com o ortovanadato.^{3; 61}

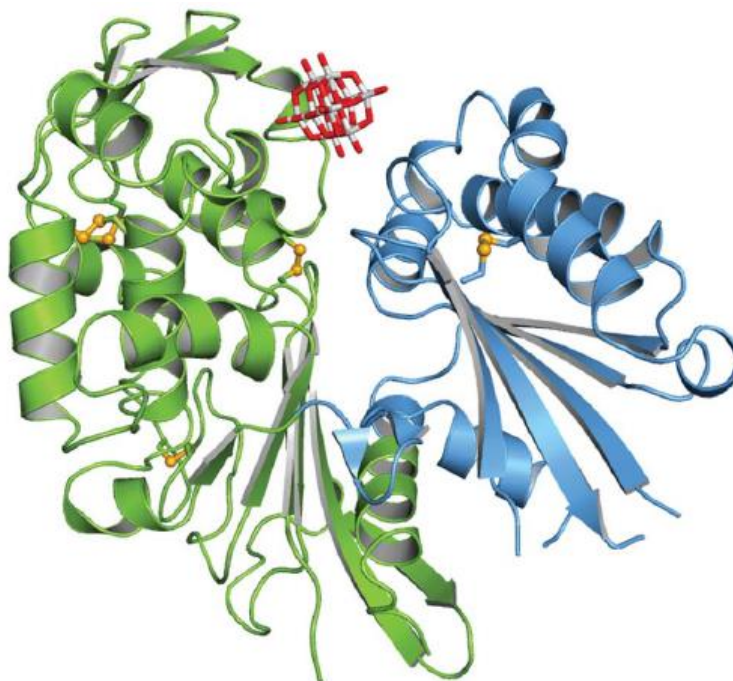


FIGURA 9. Estrutura de raios X demonstrando o ânion decavanadato (representado em vermelho e cinza) ligado à *RnNTPDase1* (nucleosídeo trifosfato difosfo-hidrolase) de *Rattus norvegicus*.

FONTE: ZEBISCH, M. (2014).⁸¹

A detecção do V_{10} dentro de leveduras^{75; 82} tem demonstrado que o POV não só pode ser formado, mas que também é estabilizado em pH fisiológico na presença das proteínas com as quais interage.⁸³ Tal fato sugere que alguns dos efeitos farmacológicos atribuídos a vanadatos mais simples podem ser, na verdade, atribuídos ao V_{10} .⁷⁵ A TABELA 1 resume alguns dos estudos de avaliação do potencial medicinal de decavanadatos.^{3; 84}

TABELA 1. POTENCIAL APLICAÇÃO MEDICINAL DE DIFERENTES DECAVANADATOS

Efeito	Polioxovanadato	Ref.
Atividade antidiabética	$(H_2Metf)_3[V_{10}O_{28}] \cdot 8H_2O$ (Metf = metformina)	6
Modulação da contração muscular	$[H_nV_{10}O_{28}]^{(6-n)-}$	85
Atividade antibacteriana	$[4-(CH_3O)C_6H_4CH_2NH_3]_6[V_{10}O_{28}] \cdot 2H_2O$	9
Atividade contra protozoários	$(NH_4)_6[V_{10}O_{28}] \cdot 6H_2O$	58
Atividade antitumoral	$K_2(MeNC_5H_4COOH)_2[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 2H_2O$, $(H_2NMe_2)_4[V_{10}O_{28}H_2](Me_3NCH_2COO)_2$ e $(Me_3NCH_2COOH)_4[V_{10}O_{28}H_2](Me_3NCH_2COO)_2 \cdot 2H_2O$	7

A interação do V_{10} com proteínas dependentes de fosfato faz do ânion um candidato a agente insulino-mimético,⁸⁶ antibacteriano¹⁰ e antiparasitário;⁵⁸ já sua capacidade de interagir com actina, miosina e Ca^{2+} -ATPase confere ao decavanadato um papel regulador da contração muscular.^{61; 87} A interferência que o V_{10} exerce sobre o processo oxidativo em mitocôndrias, levando à despolarização da

membrana mitocondrial, é desencadeadora do processo de morte celular, o que pode ser importante para seu potencial anticarcinogênico.^{2; 3} A FIGURA 10 retrata os principais alvos do decavanadato já conhecidos em células eucarióticas.

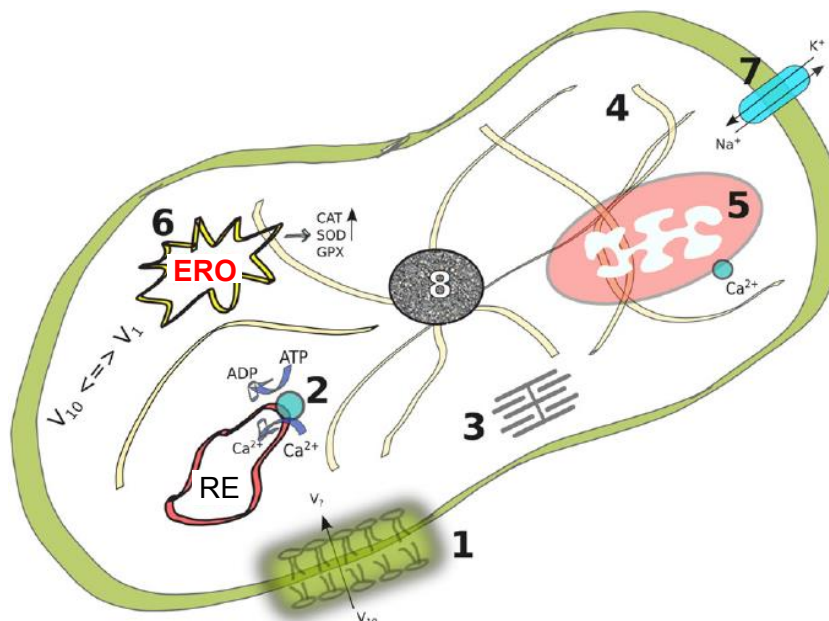


FIGURA 10. Possíveis alvos biológicos do V_{10} em células eucarióticas, onde 1 = proteínas de membrana, 2 = bombas de Ca^{2+} do retículo endo- ou sarcoplasmático, 3 = proteínas do sistema contrátil em células musculares, 4 = actina, 5 = mitocôndria, 6 = produção de ERO (Espécies Reativas de Oxigênio), 7 = transportadores de íons transmembrana e 8 = núcleo.

FONTE: AURELIANO, M. (2014).³

Por outro lado, uma vez presente no ambiente extracelular, ainda não se sabe se o decavanadato, um ânion volumoso e de alta densidade de carga, é capaz de passar pela membrana celular, lipofílica e de potencial negativo, a fim de exercer seus efeitos.^{75; 88; 89} Reações com moléculas orgânicas têm se mostrado úteis tanto no aumento da lipofilicidade quanto da estabilidade do V_{10} em meio fisiológico, apresentando melhoras da atividade avaliada.⁸⁹ Nesse sentido, estudos envolvendo polioxometalatos para fins medicinais têm se direcionado para o encapsulamento dos agregados em surfactantes ou matrizes orgânicas biocompatíveis⁴⁴ e para o desenvolvimento de POM contendo ligantes ou cátions orgânicos.^{7; 84}

2.4 MATERIAIS HÍBRIDOS ORGÂNICO-INORGÂNICOS BASEADOS NO DECAVANADATO E SEU POTENCIAL MEDICINAL

Os materiais híbridos orgânico-inorgânicos encontram-se na interface entre duas áreas distintas da Química e têm levado a uma grande contribuição à ciência de materiais e biomateriais. Eles têm sido divididos em duas classes de acordo com as interações existentes entre os componentes orgânicos e inorgânicos. No *tipo I*, há ligações covalentes entre as partes orgânica e inorgânica, formando, por exemplo, alcóxidos de polioxometalatos que podem ser funcionalizados adicionalmente com outras moléculas orgânicas (FIGURA 11a). Nesse sentido, POM com estruturas do tipo Lindqvist têm sido bastante explorados principalmente na ciência de materiais para formar polímeros de coordenação, MOF (*metal-organic frameworks*) e para promover interações com nanotubos de carbono.^{90; 91; 92; 93}

No *tipo II*, o qual é o foco deste trabalho, as interações entre as partes orgânica e inorgânica não são covalentes, como as ligações de hidrogênio e as interações eletrostáticas (FIGURA 11b). Estes materiais híbridos têm gerado avanços ou potencializado funções biológicas em função de interações sinérgicas entre os componentes.

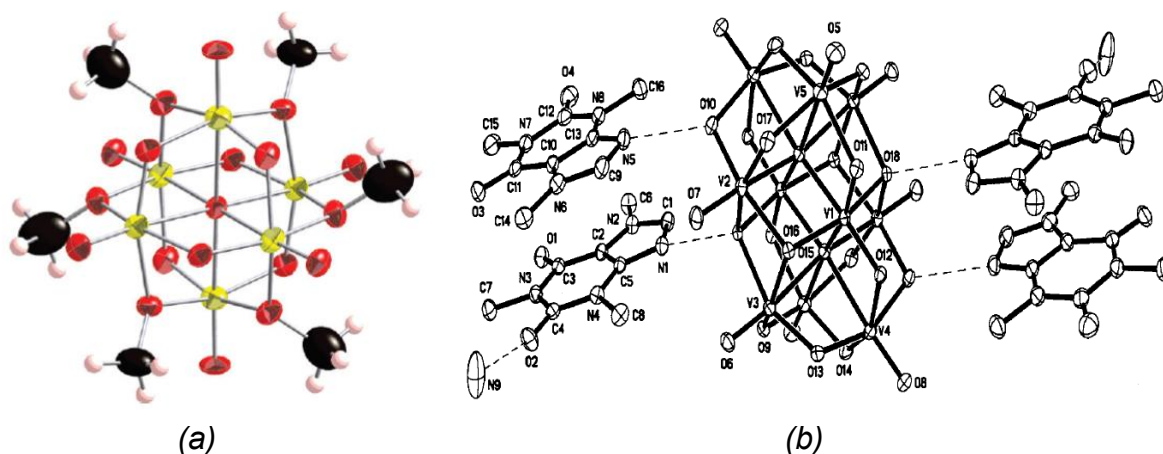


FIGURA 11. Polioxovanadatos pertencentes às classes do *tipo I* e *II*. (a) Estrutura do hexametoxo-hexavanadato $[V_6O_{13}(OCH_3)_6]^{2-}$, onde vanádio, oxigênio e carbono são pintados de amarelo, vermelho e preto, respectivamente. Este alcóxido foi formado a partir da alcoólise de hidróxidos em ponte presentes no vanadato de partida e preserva a estrutura de Lindqvist do POV de partida. (b) Diagrama ORTEP de $(NH_4)_2(C_8H_{10}N_4O_2)_4[H_4V_{10}O_{28}]$, onde $C_8H_{10}N_4O_2$ = cafeína.
FONTE: DOMAE, K. (2009)⁹⁴ e LIU, S. (2004)⁹⁵.

No estado sólido, os solventes de cristalização e os contraíons empregados têm grande influência sobre o grau de protonação do ânion. Como consequência,

variações do meio reacional e dos cátions usados proporcionam diversos arranjos cristalinos aos compostos contendo o decavanadato. Solventes apróticos, por exemplo, favorecem um arranjo dimérico do polioxoânion (FIGURA 12). Além disso, diferentes cátions e solventes de cristalização podem gerar diferentes tipos de interações entre as estruturas envolvidas, o que tem influência sobre a estabilidade do composto resultante.^{80; 96; 97}

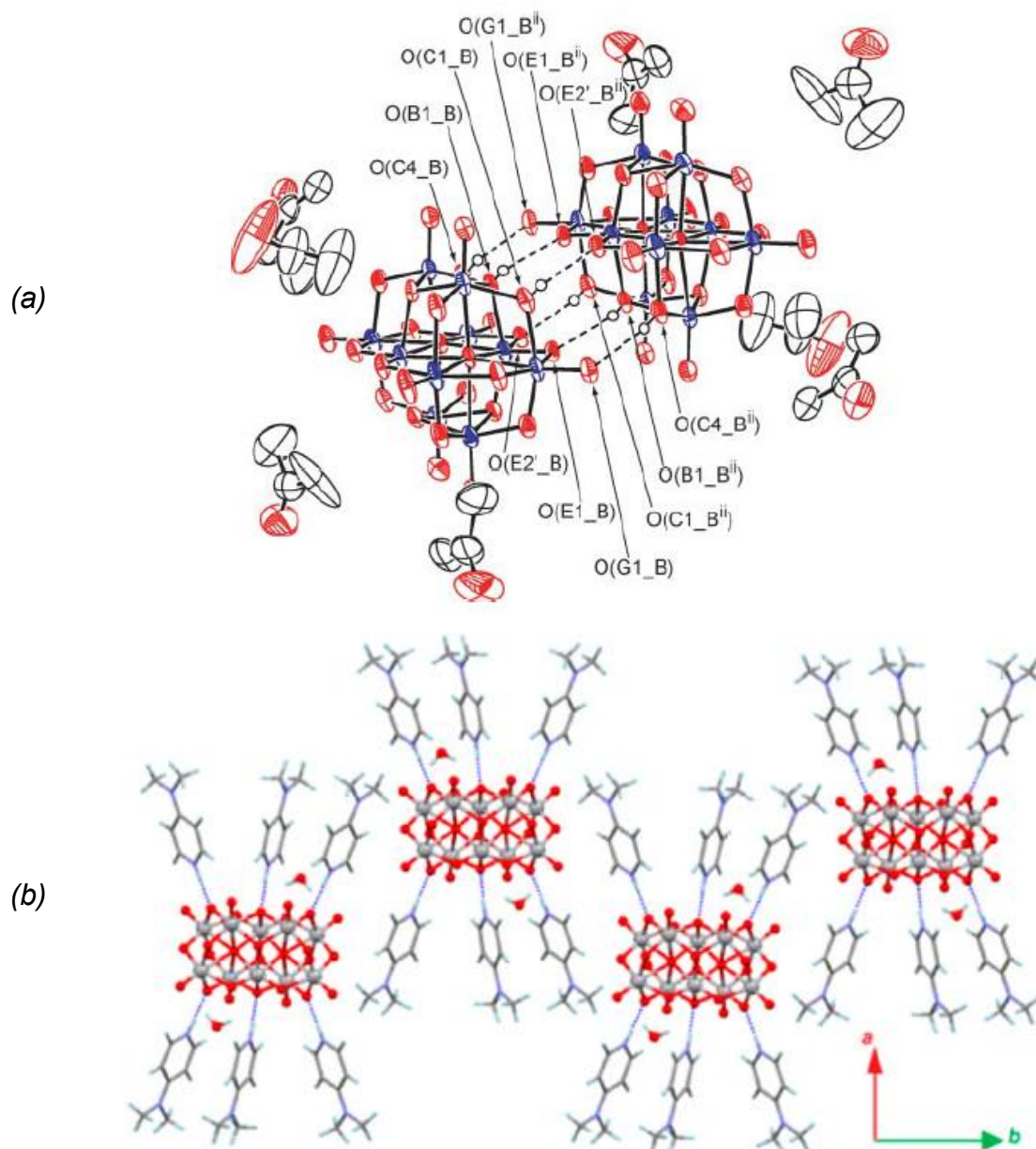


FIGURA 12. (a) Formação de dímeros de V_{10} no composto $[(n-C_5H_{11})_4N]_3[H_3V_{10}O_{28}] \cdot 2(CH_3)_2CO$ frente à presença de 2-propanona (acetona) como solvente de cristalização. (b) Formação de unidades discretas de $(DMAPH)_6[V_{10}O_{28}] \cdot H_2O$ (DMAPH = 4-dimetilaminopiridínio) na presença de somente uma molécula de água de cristalização.

FONTE: OZEKI, T. (2008)⁹⁸ e GONZÁLEZ-VERGARA, E. (2016).⁹⁹

A possibilidade de modulação das propriedades farmacológicas e catalíticas do ânion decavanadato a partir da sua combinação com diferentes cátions orgânicos tem levado a um recente aumento no interesse dos estudos destes sais.^{7; 12; 78} Esta modulação é mediada pelo aumento da lipofilicidade da estrutura devido à presença do componente orgânico e pelos diferentes modos de interação do cátion com o polioxometalato.^{95; 100; 101}

Entre os métodos de síntese empregados na preparação desses sais, destacam-se aqueles que usam materiais de partida de vanádio(V), como o V_2O_5 ⁸⁰ e os oxoânions ortovanadato (VO_4^{3-})⁷⁸ e metavanadato (VO_3^-).⁹⁵ As diferentes metodologias descritas em literatura foram desenvolvidas para facilitar a solubilização dos materiais de partida e favorecer o deslocamento do equilíbrio químico para maximizar a formação do polioxovanadato desejado.

A FIGURA 13 representa o equilíbrio entre oxocompostos de vanádio(V) controlado pelo pH do meio aquoso; no entanto, a variação de fatores como a concentração de vanádio, o tempo e a temperatura também são amplamente relatados na literatura.^{80; 95; 102}

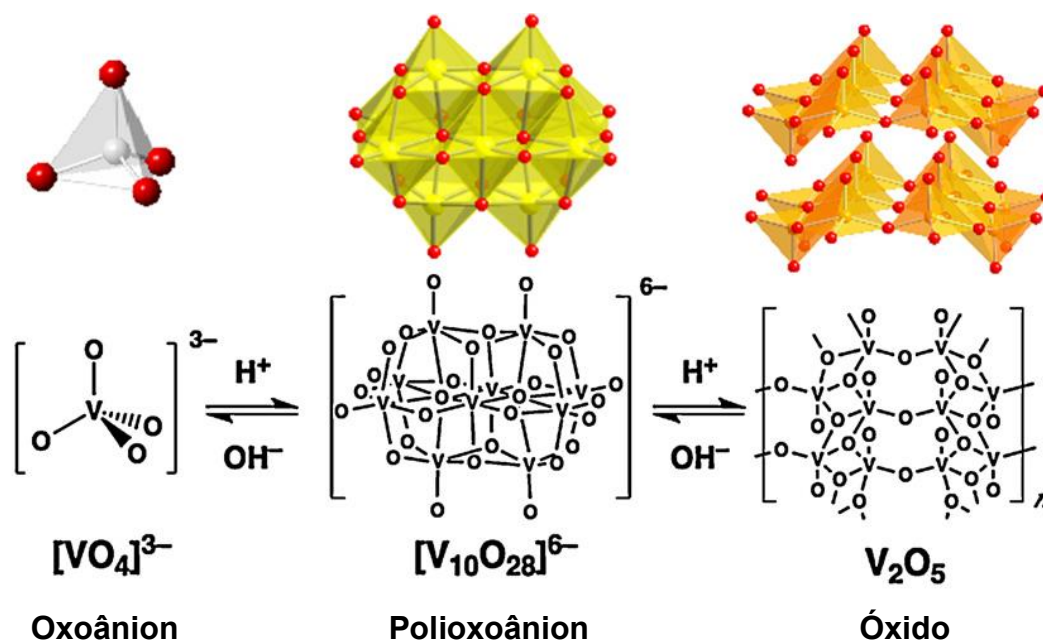


FIGURA 13. Sequência de hidrólise de ânions e óxidos na química do vanádio(V).
FONTE: HAYASHI, Y. (2011).¹⁰³

Dessa forma, o ânion decavanadato pode ser visto como uma espécie intermediária entre a formação dos vanadatos de menor nuclearidade e do óxido V_2O_5 , formando pontes oxo entre os centros metálicos a partir de reações de oxidação e de oxidação em meio ácido (EQUAÇÕES 5 e 6).¹⁰⁴



Atualmente, há cerca de 160 estruturas cristalinas reportadas para o ânion decavanadato na base de dados CCDC; no entanto, ainda são poucos os estudos que procuram racionalizar o efeito dos cátions orgânicos sobre a atividade biológica observada. Dentre eles, destacam-se os trabalhos que buscam aumentar uma das atividades biológicas conhecidas para este ânion através da associação com moléculas orgânicas que são comumente empregadas para o mesmo fim, buscando-se um efeito cooperativo entre eles.

Assim, o decavanadato contendo carnitina como contraíon, um peptídeo endógeno que tem ação preventiva contra a carcinogênese, foi avaliado em sua atividade frente a fibroblastos e a várias linhagens de células tumorais de murinos e humanos.⁸ A atividade do decavanadato contendo o contraíon orgânico foi aumentada de 6 a 10 vezes em relação à do ortovanadato e dos decavanadatos com cátions simples como tetrametiletilenodiamônio e etilenodiamônio, inibindo seletivamente o crescimento das células cancerosas em relação ao de células saudáveis.⁸

Em relação ao potencial demonstrado por moléculas orgânicas com atividade anticâncer, recentemente a natureza zwitteriônica de betaínas foi explorada para formar compósitos entre o acetato de metilamônio, a trigonelina e o ânion decavanadato.⁷ Testes preliminares com esses híbridos apontaram para uma diminuição da viabilidade celular de células de câncer de mama MCF-7 e adenocarcinoma de pulmão A549 de até 60% e 76%, respectivamente, em relação a células não tratadas.⁷

A associação entre a metformina (Metf) e o V_{10} foi o foco de dois estudos quanto a sua ação antidiabética. No primeiro,⁵ o composto $(H_2Metf)_3[V_{10}O_{28}] \cdot 8H_2O$ (Metf- $V_{10}O_{28}$) foi testado em ratos Wistar machos com diabetes induzido por uma dieta hipercalórica, um modelo que procurou simular o diabetes tipo 2. O Metf- $V_{10}O_{28}$ provocou uma melhora na resposta glicêmica e lipidêmica em relação aos ratos tratados somente com metformina. No segundo estudo,⁶ o mesmo Metf- $V_{10}O_{28}$ foi testado também em um modelo de diabetes tipo 1, em animais com diabetes induzido por aloxana. Este foi capaz de gerar melhores respostas metabólicas nos

animais em comparação com os tratamentos com metformina e insulina, além de apresentar baixa toxicidade e aumentar a produção de insulina nos ratos com diabetes induzida por aloxana.

Já em um trabalho que testou a atividade antimicrobiana do decavanadato adsorvido em membranas de quitosana, o composto apresentou atividade idêntica à da penicilina G e 2 a 4 vezes melhor do que a da ofloxacina e do decavanadato puros contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.¹² A quitosana é um polissacarídeo catiônico isolado do exoesqueleto de crustáceos e possui atividade antibiótica já reconhecida. Portanto, a associação das duas espécies químicas com ação antibacteriana potencializou os efeitos de ambas, chegando a níveis equivalentes aos de antibióticos tradicionais.¹²

Estudos da associação do V_{10} com contraíons orgânicos, especialmente aqueles contendo grupamentos amina, são particularmente interessantes na tentativa de entendimento de como o V_{10} interage com proteínas em meio biológico e com a membrana plasmática das células.⁸⁹ Há controvérsias sobre se o polioxoânion age sobre proteínas de membrana (ATPases e fosfatases) em seu domínio extracelular ou citoplasmático.³ No entanto, a ação do decavanadato sobre a Ca^{2+} -ATPase, a mitocôndria e proteínas do citoesqueleto (actina e miosina) depende da sua penetração pela membrana celular ou da sua formação dentro da célula.^{3; 88}

Com o objetivo de entender melhor esse efeito aparentemente sinérgico da combinação de cátion e ânion,⁸⁹ Crans e colaboradores realizaram estudos envolvendo a solubilização do V_{10} com a metformina protonada em um sistema de micelas reversas de bis(2-etil-hexil)sulfossuccinato de sódio (AOT). Análises por espectroscopia de RMN de 1H e ^{51}V e por espalhamento dinâmico de luz (*dynamic light scattering* – DLS) demonstraram que a presença do cátion orgânico mudou a organização das moléculas de água próximas à interface entre o meio aquoso e a superfície da micela de AOT, melhorando a interação do V_{10} com a micela (FIGURA 14). Os resultados sugerem que o cátion possa auxiliar na captação celular do polioxoânion.⁷⁹

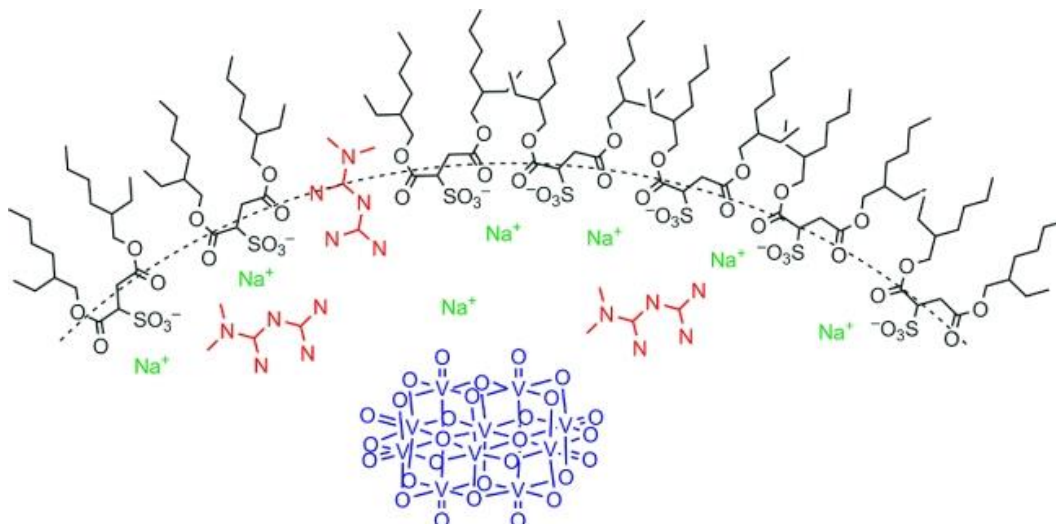


FIGURA 14. Representação esquemática da interação de $(\text{Hmet})_2\text{V}_{10}$ com uma micela reversa, proposta a partir de dados de RMN e DLS.

FONTE: CHATKON, A. (2013).⁷⁹

Embora o papel biológico do decavanadato esteja sendo amplamente investigado e avanços tenham sido relatados na última década, muitos questionamentos a respeito de sua formação em diferentes domínios celulares e de seu mecanismo de ação permanecem sem respostas satisfatórias.¹⁰⁵ Neste contexto, o interesse do presente trabalho reside em um melhor entendimento (i) da toxicidade apresentada pelo decavanadato frente a culturas de *Escherichia coli*, visando uma possível ação antibacteriana do V_{10} , e (ii) de como a interação do decavanadato com cátions orgânicos influencia as suas propriedades químicas e biológicas.

2.5 A ESCOLHA DOS COMPONENTES ORGÂNICOS E DO MODELO BIOLÓGICO AVALIADO

Estudos a respeito da atividade biológica do decavanadato são bastante direcionados a células eucarióticas ou modelos mais complexos, como camundongos, ratos ou peixes.^{5; 86; 106} Apesar de ter ação tóxica reconhecida sobre bactérias, tal ação do V_{10} não é muito explorada na literatura.

Foram encontrados poucos artigos que avaliam a atividade do decavanadato aliado a cátions orgânicos, como a 4-picolina protonada, o *terc*-butilamônio e a quitosana, em organismos procarióticos.^{9; 10; 107} Neles, a toxicidade dos compostos

foi explicada por analogia com estudos da atividade do decavanadato em células eucarióticas, não havendo uma racionalização extensiva dos resultados observados.

A escolha de contraíons orgânicos adequados pode auxiliar na compreensão do papel do cátion sobre os efeitos do decavanadato, e também auxiliar no entendimento da interação do ânion com interfaces lipídicas. Além disso, como a ação dos polioxometalatos tem sido relacionada à interação com resíduos de aminoácidos em enzimas e proteínas,^{30; 81} pareceu-nos importante avaliar compostos com grupos funcionais amínicos e carboxílicos, ou que pudessem ser convertidos nestes últimos *in vivo*.

Neste trabalho, os compostos orgânicos estudados em suas interações com o decavanadato (FIGURA 15) foram selecionados de forma a abranger substâncias que possam estar presentes no meio biológico, ou para as quais os organismos de interesse já tenham um mecanismo de absorção desenvolvido, não sendo, assim, tóxicos às células.

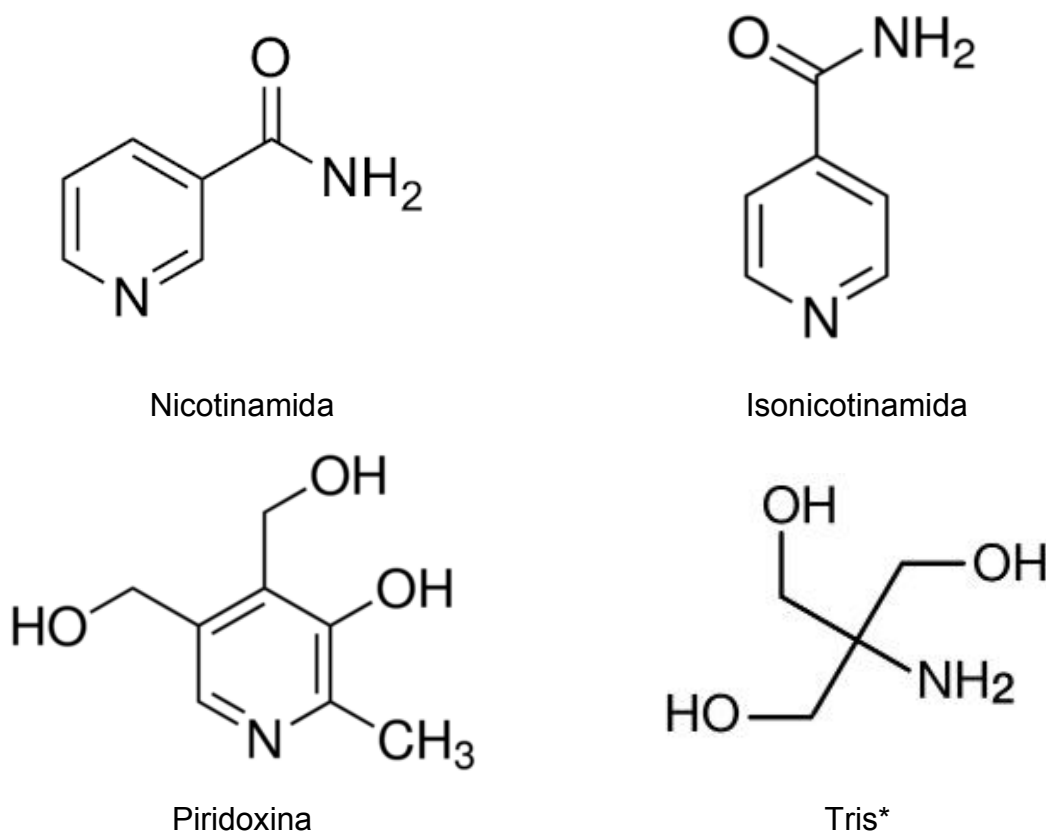


FIGURA 15. Moléculas orgânicas selecionadas para este trabalho. (*) Tris(hidroximetil)aminometano.

Na FIGURA 15, os dois primeiros compostos são relacionados à niacina, também conhecida como vitamina B3, que é uma vitamina hidrossolúvel cujos

derivados (NAD^+ , NADH , NADP^+ e NADPH) desempenham importante papel no metabolismo energético celular e na reparação do DNA.^{108; 109} O termo niacina é normalmente utilizado para o ácido nicotínico; no entanto, ele pode ser definido mais amplamente para englobar a nicotinamida, seu derivado metabólico.

Apesar de a isonicotinamida não ser uma substância reconhecida como segura em relação ao consumo humano (*Generally Recognized as Safe, GRAS*), ela tem sido usada em diferentes sistemas por ser considerada uma molécula efetiva na cocristalização de fármacos.^{110; 111} A escolha da isonicotinamida neste trabalho se deve à mudança na posição dos substituintes no anel aromático em relação à nicotinamida, o que poderia gerar uma reatividade diferenciada.

A vitamina B6 consiste em uma mistura de piridoxina, piridoxal e piridoxamina, que são normalmente interconvertidos tanto em organismos procariotos e eucariotos.^{112; 113; 114} Desses compostos, a piridoxina é a mais estável, sendo usada nas preparações farmacêuticas na forma de sais. Entre outras funções, a vitamina B6 participa de reações de degradação de aminoácidos em que um dos produtos finais é a acetilcoenzima A, necessária à produção de energia e à síntese de proteínas, lipídios e acetilcolina.¹¹⁵

O 2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol (tris) é um conhecido agente tamponante, muito utilizado na preparação de meios líquidos para o cultivo de bactérias e em vários ensaios biológicos.^{116; 117} Ele foi escolhido por ser um triol alifático, semelhante à piridoxina (componente da vitamina B6), que é um triol aromático.

O modelo biológico de escolha para os ensaios com o decavanadato associado às moléculas orgânicas selecionadas foi a bactéria *Escherichia coli* da estirpe DH5 α . A *Escherichia coli* é uma bactéria flagelada Gram-negativa muito utilizada em estudos de recombinação gênica e replicação de plasmídeos.¹¹⁸ A *E. coli* faz parte da flora intestinal normal dos seres humanos, mas pode causar infecções do trato gastrointestinal ou urinário em situações de queda de imunidade, por exemplo.^{119; 120} São conhecidas várias estirpes da bactéria, dentre elas estirpes patogênicas e laboratoriais. A DH5 α foi selecionada por ser uma estirpe não patogênica e de uso comum em laboratório.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- ✓ Contribuir para o entendimento do efeito que cátions orgânicos exercem sobre a interação do decavanadato com células procarióticas, usando *Escherichia coli* como modelo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Preparar decavanadatos, $[H_nV_{10}O_{28}]^{(6-n)-}$, com contraíons orgânicos que possuam atividade biológica reconhecida, como os ácidos conjugados da nicotinamida, do seu isômero isonicotinamida, da piridoxina e do tampão tris(hidroximetil)aminometano (“tris”);
- ✓ Caracterizar os produtos das reações empregando análise elementar, difratometria de raios X de monocristal, análise termogravimétrica (TG) e métodos espectroscópicos (espectroscopia vibracional na região do infravermelho, ressonância magnética nuclear (RMN de 1H e de ^{51}V), espectroscopia eletrônica (UV-vis) e ressonância paramagnética eletrônica (RPE));
- ✓ Avaliar a toxicidade dos decavanadatos sintetizados frente a culturas de *Escherichia coli*;
- ✓ Avaliar, por citometria de fluxo, as causas do efeito citotóxico dos compostos preparados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DESCRIÇÃO DA APARELHAGEM E TÉCNICAS DE ANÁLISE

4.1.1 Titulação redox

A dosagem de vanádio foi realizada por meio de titulação redox conforme método descrito na literatura.¹²¹ Uma solução de sulfato ferroso amoniacal, $(\text{NH}_4)_2[\text{Fe}(\text{SO}_4)_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi empregada como titulante, e a difenilamina sulfonato de bário ($\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{BaN}_2\text{O}_6\text{S}_2$), como indicador redox.

4.1.2 Gravimetria

Alternativamente, a dosagem de vanádio foi feita por calcinação em cadinhos de porcelana em um forno do tipo mufla SP Labor SP-1200, com temperaturas de até 600°C . Massas de 50 a 100 mg das amostras foram pesadas para a análise.

4.1.3 Análise elementar

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) presentes em cada amostra foram analisados no laboratório MEDAC em Chobham (Surrey), Inglaterra, utilizando-se uma técnica de combustão.

4.1.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção no infravermelho com transformada de Fourier foram registrados em um instrumento BIORAD FTS 3500GX na região de 400 a 4000 cm^{-1} a partir de pastilhas de KBr, com 32 varreduras a uma resolução de 4 cm^{-1} . As pastilhas continham aproximadamente 200 mg de KBr e 1 mg de amostra macerados e prensados.

4.1.5 Espectroscopia Raman

Os espectros de espalhamento Raman foram adquiridos na região de 120 a 4000 cm^{-1} em um equipamento Renishaw Raman Image acoplado a um microscópio óptico Leica; este último foca a radiação incidente em uma área de amostra de 1 μm^2 . As análises utilizaram um laser de He-Ne (632,8 nm) com potência ajustada para 0,2 mW.

4.1.6 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta/visível (UV/Vis)

Os espectros UV/Vis foram adquiridos à temperatura ambiente em uma faixa de comprimento de onda de 250-700 nm em um espectrofotômetro PerkinElmer LAMBDA 1050 UV/Vis/NIR equipado com três detectores de PMT/InGaAs/PbS. As concentrações das soluções aquosas dos compostos variaram de 0,010 a 0,250 mmol L^{-1} e as medidas foram realizadas em cubetas de quartzo de caminho óptico de 1 mm.

4.1.7 Difratometria de raios X de pó (DRX de pó)

Os difratogramas de raios X de pó foram obtidos em um equipamento Shimadzu XRD-600, com radiação Cu- $K\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) empregando pó de silício como padrão interno. As análises utilizaram voltagem de 40 kV, corrente de 40 mA e velocidade de varredura de 0,02 s^{-1} (em 2θ). A identificação dos óxidos obtidos foi feita por comparação com as fichas-padrão JCPDS (*Joint Committee on Powder Diffraction Standards*).

4.1.8 Difratometria de raios X de monocristal (DRX de monocristal)

As análises por difração de raios X de monocristal foram realizadas a partir de cristais embebidos em óleo mineral e depositados em um suporte polimérico amorfo sob fluxo de nitrogênio (100 K) em um difratômetro Bruker modelo D8

Venture equipado com detector de área Photon 100, radiação monocromática de Mo-K α ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) e monocromador de grafite. As coletas e as integrações de dados foram feitas empregando o *software* APEX 3 da Bruker. As estruturas foram determinadas através de métodos diretos no *software* SHELXS,¹²² enquanto o método dos mínimos quadrados em matriz completa, em F²'s, foi utilizado para o refinamento no *software* SHELXL.¹²³ Os átomos diferentes de hidrogênio passaram por refinamento com parâmetros térmicos anisotrópicos.

4.1.9 Ressonância paramagnética eletrônica (RPE)

Os espectros de RPE foram registrados nas amostras sólidas pulverizadas à temperatura ambiente ou em solução aquosa (1,0 mmol L⁻¹) a 77 K, utilizando um espectrômetro Bruker ELEXSYS MX-micro que opera em banda X (9,5 GHz). A simulação de um dos espectros foi realizada com o *software* EasySpin para a plataforma MatlabR.¹²⁴ As principais direções do tensor A foram consideradas as mesmas do tensor g.

4.1.10 Ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ⁵¹V

As análises por RMN de ¹H e ⁵¹V empregaram um equipamento Bruker AVANCE 400 a 9,4 T equipado com uma sonda multinuclear de detecção direta (5 mm). O registro dos espectros ocorreu a 303 K e aproximadamente 30 min após o preparo das amostras (0,6 mL), utilizando pulsos de 90°. A análise de pré-saturação do RMN de ¹H foi feita com 16 varreduras, com um intervalo entre ciclos de 1,0 s e tempos de aquisição de 6,7 s, ao longo de uma janela espectral de 11,5 ppm (+10,1 a -1,4 ppm). Os espectros de RMN de ⁵¹V foram registrados com 1024 a 2048 varreduras, com um intervalo entre ciclos de 0,1 s e tempos de aquisição de 0,157 s, ao longo de uma janela espectral de 990 ppm (+44 a -946 ppm). As frequências de aquisição dos núcleos de ¹H e ⁵¹V corresponderam a 400,13 e 105,25 MHz, respectivamente. O preparo das amostras foi feito em água deuterada (D₂O), com soluções a 1,0 e 5,0 mmol L⁻¹ de cada produto, com base nas respectivas massas molares. Nos espectros de RMN de ¹H, fixou-se o sinal pré-saturado de H₂O residual

em 4,75 ppm, ao passo que VOCl_3 em capilar foi utilizado como referência externa para os espectros de RMN de ^{51}V , fixando-se o sinal em 0,00 ppm.

4.1.11 Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica foi realizada em fluxo de N_2/O_2 gasoso, a 50 mL min^{-1} , em um equipamento Netzsch STA449 F3 Júpiter, com forno de carvão de silício. As amostras analisadas, aproximadamente 4 mg, foram aquecidas em cadinho de alumínio, com uma rampa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ em uma faixa de 20 a $800 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.2 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS E GENERALIDADES

Todas as soluções e os materiais utilizados nos ensaios biológicos, como ponteiras, tubos plásticos e frascos de vidro, foram esterilizados em autoclave modelo HA, SERCON. A água empregada nas reações e ensaios biológicos (resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) foi previamente destilada e purificada em um purificador de água MilliQ.

Os ensaios biológicos foram preparados em câmaras de fluxo laminar. As culturas bacterianas foram incubadas em estufa de cultura Modelo 002 CB, Fanem Ltda, a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e centrifugadas em uma ultracentrífuga MiniSpin Eppendorf. Para o cultivo em meio líquido, após o preparo de cada inóculo as culturas bacterianas foram novamente incubadas a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ em uma câmara incubadora com agitação orbital (*shaker*) New Brunswick Scientific C25 Incubator Shaker sob agitação de 150 rpm.

4.3 REAGENTES E SOLVENTES

Todos os reagentes foram utilizados conforme recebidos do fabricante. A TABELA 2 lista a pureza e a procedência dos reagentes.

TABELA 2. LISTA DE REAGENTES UTILIZADOS EM TODAS AS ETAPAS DESTE TRABALHO E ESPECIFICAÇÕES DO FABRICANTE

Nome	Fórmula	Grau de pureza (%)	Fabricante
Metavanadato de sódio	NaVO ₃	98,0	Aldrich
Pentóxido de vanádio(V)	V ₂ O ₅	≥99,6%	Aldrich
2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol (tris)	(HOCH ₂) ₃ CNH ₃	99,0	Aldrich
3-(aminocarbonil)piridina (nicotinamida)	1,3-C ₆ H ₆ N ₂ O	99,5	Aldrich
4-(aminocarbonil)piridina (isonicotinamida)	1,4-C ₆ H ₆ N ₂ O	99,0	Aldrich
Cloridrato de 4,5-bis(hidroximetil)-2-metilpiridin-3-ol (piridoxina)	C ₈ H ₁₁ NO ₃	Padrão analítico	Aldrich
Sulfato ferroso amoniacal hidratado	(NH ₄) ₂ [Fe(SO ₄) ₂].6H ₂ O	98,5 – 101,5	Synth
Difenilamina sulfonato de bário	C ₂₄ H ₂₀ BaN ₂ O ₆ S ₂	-	Merck
Peróxido de hidrogênio	H ₂ O ₂	35,0	Neon
Ácido nalidíxico	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃	≥98,0	Aldrich
Cloreto de sódio	NaCl	≥99,5	Merck
Extrato de levedura	-	-	Acumidia
Triptona (caseína hidrolisada)	-	-	Merck
Ágar	-	-	Acumidia
Glicerol	C ₃ H ₅ (OH) ₃	99,8	J. T. Baker
Iodeto de propídio (IP)	C ₂₇ H ₃₄ I ₂ N ₄	≥94%	Aldrich
Carbonilcianeto- <i>p</i> -trifluorometoxifenil-hidrazona (FCCP)	C ₁₀ H ₅ F ₃ N ₄ O	≥98%	Aldrich
Diacetato de 2',7'-diclorodi-hidrofluoresceína (DCFH-DA)	C ₂₄ H ₁₆ Cl ₂ O ₇	≥97%	Aldrich
Iodeto de 5,5',6,6'-tetracloro-1,1',3,3'-tetraetilbenzimidazolilcarbocianina (JC-1)	C ₂₅ H ₂₇ Cl ₄ IN ₄	≥90%	Invitrogen

4.3.1 Preparação do meio sólido de cultura LA

O meio sólido de cultura LA (*Luria-Bertani agar*) foi preparado por meio da dissolução de 5,0 g L⁻¹ de extrato de levedura, 10,0 g L⁻¹ de triptona, 10,0 g L⁻¹ de cloreto de sódio e 10,0 g L⁻¹ de ágar em 1,0 L de água destilada, sendo posteriormente esterilizado por 20 min em autoclave.

4.3.2 Preparação do meio líquido de cultura LB

O meio de cultura para inóculo das bactérias foi preparado dissolvendo-se os componentes do meio LB (*Luria-Bertani broth*) (5,0 g L⁻¹ de extrato de levedura, 10,0 g L⁻¹ de triptona e 10,0 g L⁻¹ de cloreto de sódio) em água destilada. A mistura foi esterilizada em seguida por 20 min em autoclave.

4.3.3 Preparação da solução salina

A solução salina a 0,9% (9,0 g de NaCl em 1,0 L de água) foi autoclavada e posteriormente armazenada à temperatura ambiente.

4.3.4 Estoque da estirpe bacteriana

Um *pellet* (precipitado das células bacterianas formado após a centrifugação) da estirpe de *E. coli* DH5 α foi mantido em suspensão em uma solução de glicerol-água 50% a uma temperatura de -20 °C.

4.3.5 Antibiótico

O ácido nalidíxico foi utilizado como antibiótico em uma concentração de 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, dissolvido em água ultrapura e esterilizado por filtração em um filtro de 0,22 μm . A solução-estoque do antibiótico foi armazenada a -20 °C.

4.4 SÍNTESES

Os produtos de reação foram codificados de acordo com a molécula orgânica ou cátion inorgânico empregado, seguido da nuclearidade do composto obtido: “V₁₀” para os decavanadatos e “V₂” para o complexo vanádio-piridoxina. Por exemplo, o decavanadato sintetizado com a nicotinamida recebeu a nomenclatura de “**NicoV₁₀**”.

4.4.1 Preparação de $[\{\text{Na}_6(\text{H}_2\text{O})_{20}\text{V}_{10}\text{O}_{28}\cdot 4\text{H}_2\text{O}\}_n]$ (**NaV₁₀**)

A preparação do polioxovanadato $[\{\text{Na}_6(\text{H}_2\text{O})_{20}\text{V}_{10}\text{O}_{28}\cdot 4\text{H}_2\text{O}\}_n]$ seguiu o método descrito por Das *et al.*¹⁰² Em um balão de fundo redondo, 0,500 g (4,1 mmol) de NaVO₃ foi aquecido sob agitação magnética a 70 °C por 3 h em 25 mL de água.

Em seguida, o pH da solução foi ajustado até 5,0 com HCl diluído, passando a apresentar uma coloração laranja forte. A esta solução foram adicionados 15 mL de acetonitrila e a mistura foi resfriada a 4 °C por um dia, formando cristais alaranjados que, após remoção da solução-mãe, foram lavados com água gelada e secos ao ar (0,301 g, 0,20 mmol).

Rendimento de 39% com base na formulação $\text{H}_{48}\text{Na}_6\text{O}_{52}\text{V}_{10}$.

Solubilidade: os cristais de **NaV₁₀** foram solúveis em água e dmso.

IV (cm^{-1}): 3410(F), 1616(m), 957(F), 824(m), 750(m), 536(m)

A análise por DRX de monocristal confirmou a célula unitária da estrutura já descrita por Guo *et al.*¹²⁵ Parâmetros de célula: $a = 10,62 \text{ \AA}$; $b = 11,41 \text{ \AA}$; $c = 11,63 \text{ \AA}$; $\alpha = 108,66^\circ$; $\beta = 103,47^\circ$; $\gamma = 111,87^\circ$; $V = 1135 \text{ \AA}^3$.

Análise elementar: valor calculado para $\text{H}_{48}\text{Na}_6\text{O}_{52}\text{V}_{10}$ ($1527,70 \text{ g mol}^{-1}$): V, 33,35%. Encontrado: V, 35,67%.

4.4.2 Preparação de $(1,3\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (**NicoV₁₀**)

Uma solução de 0,367 g (3,0 mmol) de nicotinamida em 10 mL de água foi adicionada a uma suspensão de 0,455 g (2,5 mmol) de V_2O_5 em 40 mL de água à temperatura ambiente. A seguir, o sistema foi aquecido até 100 °C, permanecendo sob refluxo com agitação magnética por 3 h (pH \approx 5). A suspensão laranja resultante passou por filtração a vácuo, gerando 0,276 g de um sólido vermelho, caracterizado como V_2O_5 que não reagiu. O filtrado recebeu uma sobrecamada de isopropanol e foi resfriado a 4 °C, gerando cristais alaranjados após 3 dias. Após remoção completa do sobrenadante e lavagem com água gelada, os cristais foram deixados para secar ao ar, produzindo 0,329 g (0,19 mmol) do produto **NicoV₁₀**.

Rendimento de 38% com base na formulação $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{N}_{12}\text{O}_{36}\text{V}_{10}$.

Solubilidade: os cristais de **NicoV₁₀** foram solúveis em água e dmso a quente.

Sólido vermelho: IV (cm^{-1}): 3443 (F), 1630 (m), 1016 (m), 825 (m) e 538 (F), compatível com V_2O_5 em 61% de reisolamento.

DRX de pó: carta 41-1426 do JCPDS.

Cristais: Análise elementar: valores calculados para $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{N}_{12}\text{O}_{36}\text{V}_{10}$ ($1732,25 \text{ g mol}^{-1}$): V, 29,40%; C, 24,96%; H, 2,68%; N, 9,70%. Encontrados: V, 30,30%; C, 24,93%; H, 2,69%; N, 9,81%.

4.4.3 Preparação de $(1,4\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (**IsoV₁₀**)

Para a obtenção deste produto, seguiu-se um procedimento similar àquele para o preparo de **NicoV₁₀**, a partir de uma suspensão de 0,455 g (2,5 mmol) de V_2O_5 em 40 mL de água e uma solução de 0,367 g (3,0 mmol) de isonicotinamida em 10 mL de água. Após filtração da suspensão obtida, 0,337 g de um sólido vermelho foi isolado, identificado como o óxido de partida. Cristais de cor laranja se formaram nas paredes do béquer assim que a solução-mãe foi resfriada até a temperatura ambiente. Após um dia de repouso, a solução-mãe foi removida para outro recipiente, e os cristais, lavados com água gelada e secos ao ar (0,174 g, 0,10 mmol).

Rendimento de 20% com base na formulação $\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{N}_{12}\text{O}_{34}\text{V}_{10}$.

Solubilidade: os cristais de **IsoV₁₀** foram solúveis em água e dmso a quente.

Sólido vermelho: $\text{IV (cm}^{-1}\text{)}$: 3421 (m), 1684 (m), 1394 (f), 1001 (m), 831 (m), 727 (m) e 521 (F), compatível com V_2O_5 em 74% de reisolamento.

DRX de pó: carta 41-1426 do JCPDS.

Cristais: Análise elementar: valores calculados para $\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{N}_{12}\text{O}_{34}\text{V}_{10}$ (1696,21 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$): V, 30,00%; C, 25,49%; H, 2,50%; N, 9,91%.
Encontrados: V, 30,60%; C, 25,55%; H, 2,59%; N, 9,87%.

4.4.4 Preparação de $[(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_3]_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (**TrisV₁₀**)

NaVO_3 (0,610 g, 5,0 mmol) foi dissolvido em 20 mL de água sob agitação a 100 °C. Esta solução, então, foi resfriada à temperatura ambiente, teve seu pH ajustado para 4,0 com HCl diluído (o que resultou em uma mudança de incolor para laranja forte) e foi adicionada à temperatura ambiente a uma solução de “tris” (0,363 g, 3,0 mmol) em 10 mL de água. O sistema permaneceu em agitação por 1 h, depois da qual recebeu uma sobrecamada de etanol e foi resfriado a 4 °C. Foram obtidos cristais alaranjados após 3 dias, os quais passaram por lavagem com água gelada e secaram à temperatura ambiente (0,478 g, 0,30 mmol, produto **TrisV₁₀**) após o líquido-mãe ser transferido para outro béquer.

Rendimento de 59% com base na formulação $\text{C}_{16}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_{50}\text{V}_{10}$.

Solubilidade: o produto apresentou-se solúvel em água e em dmso à temperatura ambiente.

Análise elementar: valores calculados para $C_{16}H_{46}N_4O_{50}V_{10}$ ($1628,16 \text{ g mol}^{-1}$): V, 31,3%; C, 11,80%; H, 4,33%; N, 3,44%. Encontrados: V, 30,3%; C, 6,37%; H, 3,29%; N, 1,89%.

4.4.5 Preparação de $[(VO_2)_2\mu_2-(C_8H_{10}NO_3)_2]$ (**PirV₂**)

Uma suspensão de 0,305 g (2,5 mmol) de $NaVO_3$ em 20 mL de água foi aquecida a 100°C até completa solubilização. Após o resfriamento da solução resultante até a temperatura ambiente, ela teve seu pH ajustado para 4,0 com HCl diluído, formando uma solução laranja. A esta, adicionou-se uma solução de 0,308 g (1,5 mmol) de piridoxina em 10 mL de água à temperatura ambiente, formando um precipitado laranja. Esse sistema foi aquecido sob agitação e refluxo a 100°C . Logo nos primeiros 30 min de reação, observou-se uma mudança de cor de laranja para amarelo e então verde escuro. Após 24 h, o aquecimento foi interrompido e o material passou por filtração simples, rendendo um sólido verde escuro (0,120 g) e uma solução verde escura, que foi armazenada à temperatura ambiente. Após 3 dias houve a formação de 0,075 g de cristais verde-escuros que, após remoção do sobrenadante e lavagem com água gelada, secaram ao ar (0,15 mmol, produto **PirV₂**).

Rendimento de 12% com base na formulação $C_{16}H_{20}N_2O_{10}V_2$.

Solubilidade: não foi solúvel em nenhum dos solventes avaliados (água e solventes orgânicos próticos e apróticos).

Análise elementar: valores calculados para $C_{16}H_{20}N_2O_{10}V_2$ ($502,22 \text{ g mol}^{-1}$): V, 20,3%; C, 38,26%; H, 4,01%; N, 5,58%. Encontrados: V, 20,0%; C, 35,81%; H, 3,90%; N, 5,30%.

4.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS DECAVANADATOS **NicoV₁₀** E **IsoV₁₀** SOBRE CULTURAS DE *E. coli*

Os produtos **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** foram testados em culturas de *Escherichia coli* DH5α em relação a quatro parâmetros: inibição do crescimento das culturas, toxicidade, potencial de membrana e níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO). Em uma primeira etapa, transferiu-se uma alíquota de 10,0 µL da suspensão da bactéria estocada a -20 °C em glicerol/água a 50% (v/v) para uma placa de Petri contendo o meio sólido LA com 12,5 µL de uma solução-estoque a 10,0 µg mL⁻¹ do antibiótico ácido nalidíxico (ácido 1-etil-7-metil-4-oxo-[1,8]naftiridino-3-carboxílico – C₁₂H₁₂N₂O₃), de modo a prevenir contaminações com outras espécies bacterianas. A placa foi incubada a 37 °C por 24 h. Após esse período, observaram-se colônias com aspecto uniforme e brilhante de cor creme com cerca de 1 mm de diâmetro. Após o aparecimento das colônias, a placa foi armazenada a 4 °C por até sete dias.

4.5.1 Técnicas utilizadas nos ensaios biológicos

4.5.1.1 Análise espectrofotométrica da densidade óptica (DO) das culturas bacterianas

O crescimento das culturas bacterianas foi acompanhado medindo-se a turbidez, ou densidade óptica (DO) do meio¹. Entretanto, esse método não diferencia células viáveis de células mortas; assim, para assegurar que o maior número possível de células estivessem viáveis no meio, as culturas foram utilizadas nos ensaios durante a fase exponencial de crescimento dos microrganismos, ou seja, quando a DO da cultura atingia um valor o mais próximo possível de 1,0.

Os comprimentos de onda mais usados para a medida da densidade óptica de suspensões de células de bactérias ou leveduras são 540, 600 ou 640 nm.¹²⁶ Neste trabalho, a medida foi realizada em um espectrofotômetro Pharmacia LKB – Ultraspec III em um comprimento de onda de 600 nm – DO₆₀₀.

¹ A turbidez é resultante da dispersão da luz provocada pelos microrganismos em cultura.

4.5.1.2 Medidas de fluorescência por citometria de fluxo

A citometria de fluxo é uma técnica que analisa, por meio de um sistema óptico, um fluxo de partículas em suspensão, geralmente células eucarióticas ou procarióticas. As partículas são iluminadas por um laser, geralmente de argônio, posicionado a 90° do fluxo. Parâmetros físicos, como tamanho e granulosidade, são avaliados somente pela medida da dispersão da luz incidente, captada por detectores posicionados em frente e perpendicularmente ao laser, respectivamente. Análises de constituintes químicos, por sua vez, normalmente dependem de marcação com sondas fluorescentes. O laser de argônio excita as partículas marcadas com a sonda e a emissão é captada por detectores posicionados perpendicularmente à fonte de laser.¹²⁷

A técnica de citometria de fluxo foi empregada neste trabalho nos ensaios de determinação de morte celular, avaliação do potencial de membrana e determinação dos níveis de espécies reativas de oxigênio, empregando sondas fluorescentes específicas para cada ensaio (TABELA 3). Estes foram conduzidos em um citômetro de fluxo BD Accuri C5, com laser de excitação a 488 nm e filtros de captação de fluorescência a 533/30 nm (no detector FL1) e 585/40 nm (no detector FL2). Em cada experimento foram contadas 100.000 partículas. As leituras foram feitas com o auxílio do *software* BD Accuri C6.

TABELA 3. SONDAS EMPREGADAS NOS ENSAIOS POR CITOMETRIA DE FLUXO

Sonda / sigla	Ensaio	Detector
Iodeto de propídio / PI	Determinação de morte celular	FL2
Iodeto de 5,5',6,6'-tetracloro-1,1',3,3'-tetraetilbenzimidazolilcarbocianina / JC-1	Avaliação do potencial de membrana	FL1 / FL2
Diacetato de 2',7'-diclorodi-hidrofluoresceína / DCFH-DA	Determinação dos níveis de espécies reativas de oxigênio	FL1

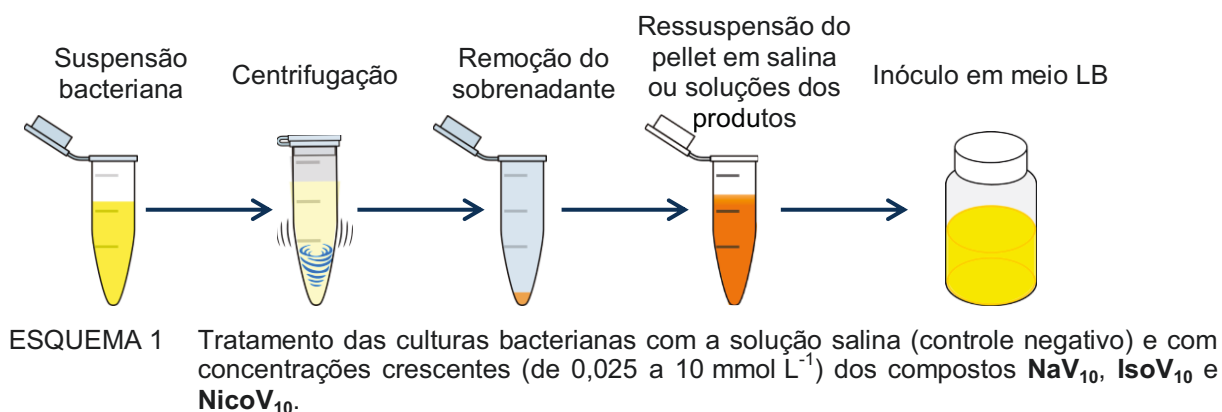
4.5.2 Metodologia adotada para os ensaios biológicos

4.5.2.1 Ensaio de inibição do crescimento das culturas de *E. coli*

Em um procedimento típico, 10 colônias da bactéria foram transferidas da placa para um frasco de cultura contendo 10,0 mL de meio líquido LB (*Luria-Bertani*

broth) e 5,0 μL de uma solução de ácido nalidíxico a 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A seguir, incubou-se esta cultura em um *shaker* a 37 °C e 150 rpm por aproximadamente 3 h, até que ela atingisse uma DO_{600} igual ou próxima a 1,0.

Em seguida, frações de 1,0 mL desta cultura (inóculo) foram separadas e centrifugadas a 5000 rpm por 10 min, formando *pellets* das bactérias. Após a remoção do sobrenadante, os *pellets* foram ressuspensos em 1,0 mL de soluções de **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** (0,025, 0,1, 2,5, 5,0 e 10,0 mmol L^{-1}) ou em solução salina a 0,9% (controle negativo). Os compostos, por sua vez, foram diluídos em salina a partir de uma solução-estoque a 10,0 mmol L^{-1} em água Milli-Q. As bactérias tratadas foram incubadas em estufa a 37 °C por 15 min e inoculadas em frascos de cultivo contendo 5,0 mL de meio LB, sendo a concentração final dos compostos no meio igual a 0,004, 0,017, 0,42, 0,83 e 1,67 mmol L^{-1} . Em seguida, os frascos foram retornados ao *shaker* a 37 °C e 150 rpm (ESQUEMA 1). A leitura da DO_{600} das culturas foi feita após 2,5 h usando o meio LB como branco e comparando-se as medições dos tratamentos com a do controle, tomada como 100% de crescimento. Os ensaios ocorreram no mínimo em triplicata e a GI_{50} (concentração que inibe o crescimento das culturas em 50%) foi estimada através do programa Graphpad Prism 7 por meio da curva de inibição obtida.



4.5.2.2 Avaliação do potencial de membrana ($\Delta\Psi$) por citometria de fluxo

As bactérias passaram pelo tratamento descrito no item 4.5.2.1, mas foram ressuspensas somente com salina (controle negativo) e com os compostos **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** na concentração de 5,0 mmol L^{-1} . Após 2,5 h de incubação no *shaker*, três alíquotas de 200 μL da amostra controle e uma alíquota de 200 μL de

cada uma das amostras tratadas com os compostos foram separadas, centrifugadas (13400 rpm por 1 min), tiveram o sobrenadante descartado e seus *pellets* ressuspensos em 200 μL de PBS. A primeira alíquota proveniente da amostra controle não recebeu nenhum tratamento adicional e foi, portanto, o branco do ensaio. A segunda recebeu a adição de FCCP, um desacoplador de membrana comercial, a $15,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ por 15 min antes de entrar em contato com a sonda JC-1, funcionando como o controle positivo. A terceira alíquota passou por procedimento igual às demais, conforme descrito a seguir (ESQUEMA 2).

Todas as alíquotas do controle e as demais provenientes dos tratamentos com os compostos foram tratadas com a sonda JC-1 a $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ por 20 min ao abrigo da luz. Em seguida, todas as amostras tiveram sua fluorescência medida no citômetro de fluxo utilizando os detectores FL1 (530 nm) e FL2 (585 nm).

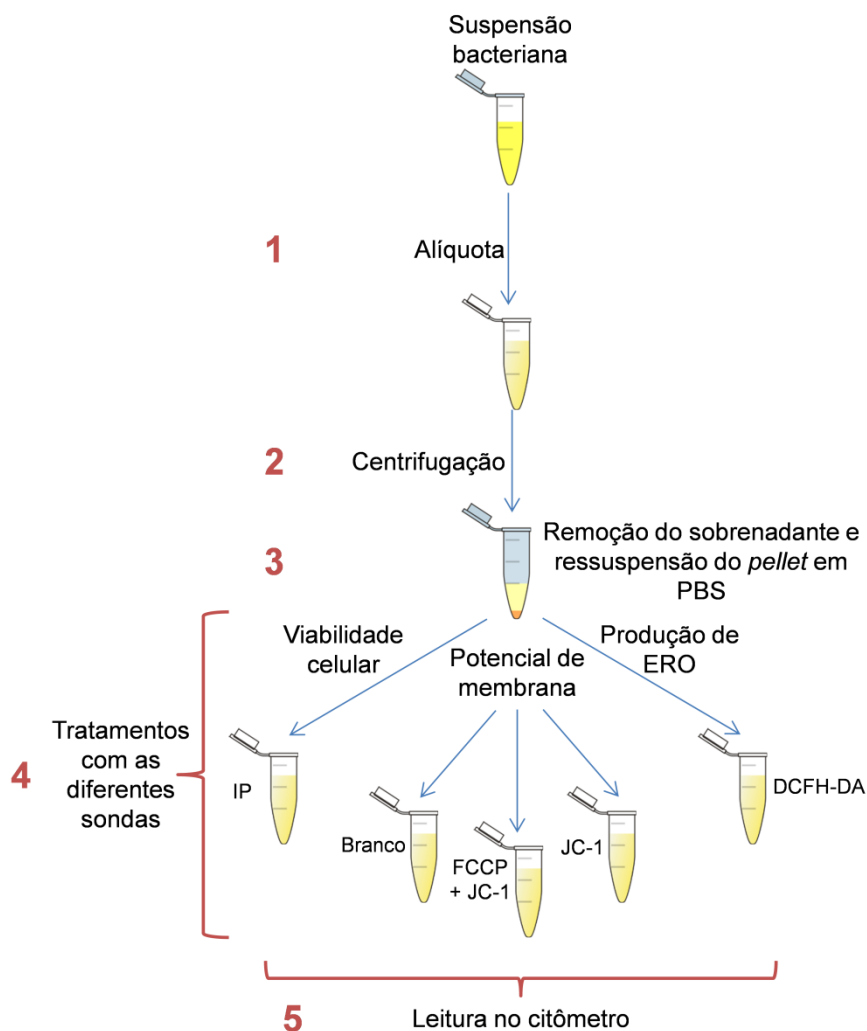
4.5.2.3 Efeito dos decavanadatos sobre a permeabilidade da membrana celular

As bactérias passaram por tratamento somente com salina (controle negativo) e com os compostos **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** na concentração de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$, seguindo o procedimento descrito no item 4.5.2.1. Após 2,5 h na incubadora, alíquotas de 300 μL das culturas foram coletadas e centrifugadas a 13400 rpm por um minuto. Removeu-se o sobrenadante e os *pellets* formados foram ressuspensos em 300 μL de tampão PBS (tampão fosfato-salino). Iodeto de propídio a $50,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi então adicionado à mistura, permanecendo em contato com as suspensões por 5 min (ESQUEMA 2). A fluorescência destas suspensões foi medida com o detector FL2 (585 nm).

4.5.2.4 Estimativa da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) por citometria de fluxo

Após o tratamento descrito no item 4.5.2.1 e a ressuspensão com salina (controle negativo) e com **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** na concentração de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$, as suspensões bacterianas cresceram por 2,5 h no *shaker*. Então, 300 μL das culturas foram separados e centrifugados a 13400 rpm por um minuto. Após

remoção do sobrenadante, os *pellets* foram ressuspensos em 300 μL de tampão PBS e as suspensões resultantes receberam a adição da sonda DCFH-DA a $50,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ (ESQUEMA 2). As suspensões com a sonda foram transferidas para uma estufa a 37°C por 30 min, ao abrigo da luz, passando, em seguida, por leitura de fluorescência no detector FL1 (530 nm).



ESQUEMA 2. Preparo das amostras e tratamento com as sondas fluorescentes para leitura no citômetro de fluxo. Até a etapa 3, as amostras passaram pelo mesmo preparo. O esquema é apresentado utilizando-se a amostra controle como exemplo, ou seja, sem considerar a adição de **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** ou **IsoV₁₀**.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

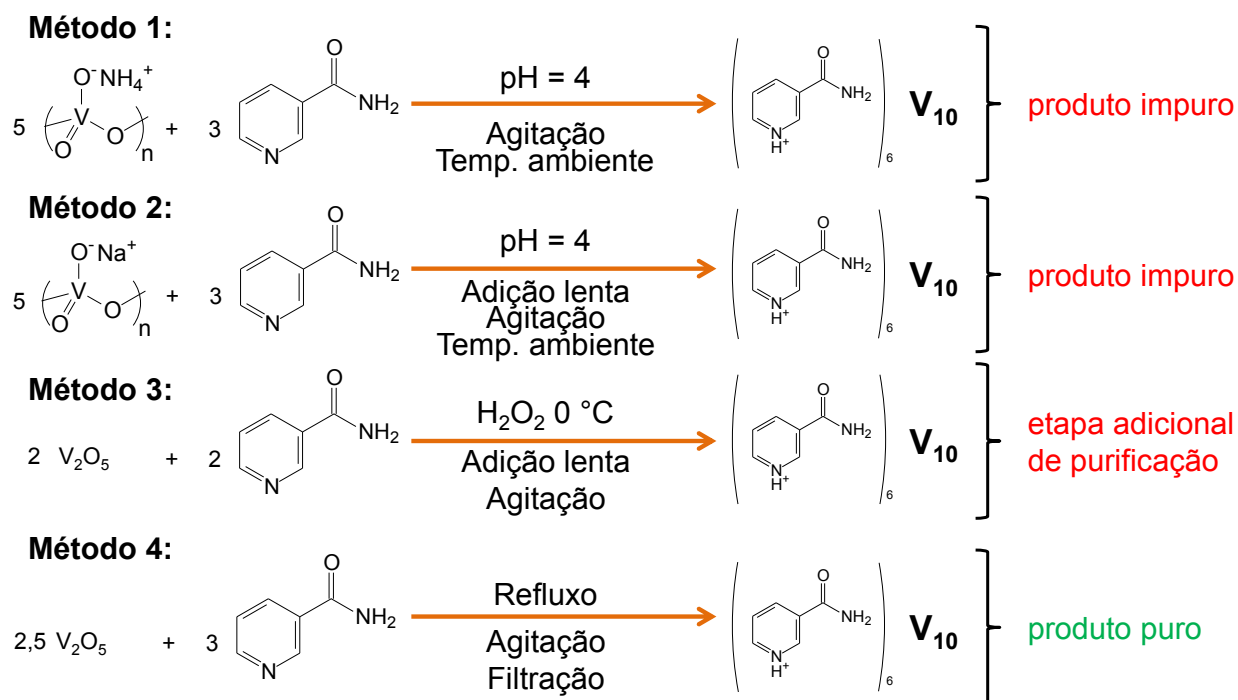
5.1 METODOLOGIA DE SÍNTESE

5.1.1 Preparação de **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**

Vários métodos de síntese de decavanadatos associados a cátions orgânicos empregando diferentes materiais de partida de vanádio(V) e até mesmo de vanádio(IV) têm sido relatados.^{95; 128; 129} Em alguns casos, os produtos foram obtidos acidentalmente^{129; 130; 131} na tentativa de preparar complexos contendo a molécula orgânica coordenada, ou sintetizar oxocompostos de valência mista e, principalmente, a partir de métodos hidrotérmicos em que se buscava preparar um polioxovanadato heterometálico.

Quando o produto desejado é o V₁₀ associado a um cátion orgânico, os precursores mais empregados são NH₄VO₃, NaVO₃ e V₂O₅.^{84; 99; 132; 133} As sínteses que utilizam sais de vanádio(V) geralmente produzem rendimentos bastante elevados, enquanto o V₂O₅ normalmente leva a rendimentos mais baixos, dada a baixa solubilidade do óxido. Ainda são poucos os trabalhos que relatam rotas sintéticas racionalizadas, especialmente quando se considera o número de descrições estruturais deste polioxoânion na base de dados cristalográficos do CCDC. Apesar de haver uma preferência pelo emprego de metodologias baseadas apenas na acidificação de soluções de oxoânions, como o VO₃⁻, à temperatura ambiente, esta via não é adequada a todos os sistemas já avaliados. Desta forma, quando a aplicação demanda um produto de alta pureza obtido em bons rendimentos, faz-se necessário testar e adaptar diferentes rotas sintéticas.

Diante do exposto acima, neste trabalho as sínteses foram inicialmente realizadas com a 3-(aminocarbonil)piridina (nicotinamida) e a 4-(aminocarbonil)piridina (isonicotinamida) empregando NH₄VO₃, NaVO₃ e V₂O₅ como materiais de partida de vanádio(V).^{102; 134} Foram empregados procedimentos previamente descritos na literatura para cada um destes reagentes, fazendo-se os ajustes necessários na tentativa de incorporar os cátions orgânicos (Metodologias 1 a 3 do ESQUEMA 3). Todos os produtos tiveram seu teor de vanádio determinado e foram analisados por espectroscopia no IV e por DRX de monocristal (onde cabível).



ESQUEMA 3. Propostas de síntese de um decavanadato contendo nicotinamida protonada como contraíon, evidenciando as desvantagens de cada metodologia. Reações similares foram realizadas com a isonicotinamida.

Reações de obtenção do ânion decavanadato (V_{10}) já eram realizadas no nosso grupo de pesquisa com contraíons mais simples (cátion amônio ou tetrametilamônio, por exemplo) a partir do ajuste do pH do meio reacional para 5,0. Tendo em vista o pKa da nicotinamida (3,35) e da isonicotinamida (3,67),¹³⁵ as sínteses passaram a ser realizadas em pH = 4,0, o qual ainda favorece a formação do polioxoânion V_{10} e se aproxima mais do pKa das moléculas orgânicas.

Produtos cristalinos foram obtidos mais facilmente com a nicotinamida do que com a isonicotinamida. Assim, os métodos de síntese partindo-se dos sais de vanádio(V) resultaram na obtenção de cristais alaranjados do produto $(1,3\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (**NicoV₁₀**). No entanto, as análises por DRX de monocristal e espectroscopia no IV mostraram que os produtos das reações utilizando o NH_4VO_3 e o NaVO_3 cristalizaram juntamente (em pequena quantidade) com decavanadatos contendo os cátions inorgânicos dos materiais de partida. Os produtos destas reações paralelas também foram isolados na forma de cristais alaranjados e possuem solubilidade similar à do produto principal nos diferentes solventes testados, tornando difícil a separação.

O decavanadato contendo o cátion isonicotinamídio como contraíon mostrou-se mais difícil de ser obtido. As tentativas de preparação empregando

NH_4VO_3 e NaVO_3 como materiais de partida levaram respectivamente à obtenção de um sólido laranja, caracterizado como V_2O_5 , e de cristais de $[\{\text{Na}_6(\text{H}_2\text{O})_{20}\text{V}_{10}\text{O}_{28}\cdot 4\text{H}_2\text{O}\}_n]$ em 100% e 72% de rendimento, respectivamente.

Alternativamente, uma metodologia adaptada de Rakovský *et al.* foi testada usando V_2O_5 e isonicotinamida (ESQUEMA 3).¹³⁶ A vantagem associada a essa metodologia é a ausência de um segundo cátion em solução, evitando a obtenção de misturas de decavanadatos cristalizados com diferentes contraíons. A desvantagem inclui condições de reação mais drásticas, como o uso de H_2O_2 para solubilizar o V_2O_5 (processo bastante exotérmico, exigindo bastante cautela). Além disso, o peróxido pode favorecer a oxidação do material orgânico pelo vanádio.^{137; 138; 139} Este método resultou em cristais do produto desejado, $(1,4\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (**IsoV₁₀**), porém misturados a um pó de coloração avermelhada, o que exigiu uma etapa adicional de purificação.

Nas tentativas de otimização da síntese com V_2O_5 , as misturas de reação contendo nicotinamida e isonicotinamida foram colocadas em refluxo, sem adição de H_2O_2 , por 3 h. Após a filtração do óxido que não reagiu e o resfriamento das soluções à temperatura ambiente, foram isolados cristais alaranjados em forma de blocos (Método 4 no ESQUEMA 3). Este procedimento resultou em produtos cristalinos de alta pureza, com rendimentos satisfatórios de 38 e 20% respectivamente para **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**, e sem a necessidade de etapas adicionais de purificação. Desta forma, as próximas seções apresentam a caracterização dos produtos obtidos por essa metodologia.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS DECAVANADATOS CRISTALIZADOS COM NICOTINAMIDA E ISONICOTINAMIDA

5.2.1 Caracterização no estado sólido

5.2.1.1 Caracterização por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros de IV registrados para os produtos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** apresentaram bandas características das moléculas orgânicas e de oxocompostos

de vanádio. Os espectros são apresentados na FIGURA 16 e as atribuições tentativas baseadas na literatura são relatadas na TABELA 4.^{140; 141}

Os espectros dos dois produtos apresentam bandas alargadas na região abaixo de 1000 cm^{-1} , correspondentes a $\nu(\text{V}=\text{O})$ entre 950 e 970 cm^{-1} e $\nu_{\text{as}}(\text{V}-\text{O}-\text{V})$, $\nu_{\text{s}}(\text{V}-\text{O}-\text{V})$ e $\delta(\text{V}-\text{O}-\text{V})$ na região de 820 , 740 e 550 cm^{-1} ,¹⁴⁰ sugerindo a obtenção do polioxoânion de interesse. Os espectros apresentam ainda bandas alargadas na região de 3500 a 3200 cm^{-1} características dos modos de vibração $\nu(\text{O}-\text{H})$ e $\nu(\text{N}-\text{H})$ provenientes dos componentes orgânicos e/ou de moléculas de água incorporadas na rede cristalina.

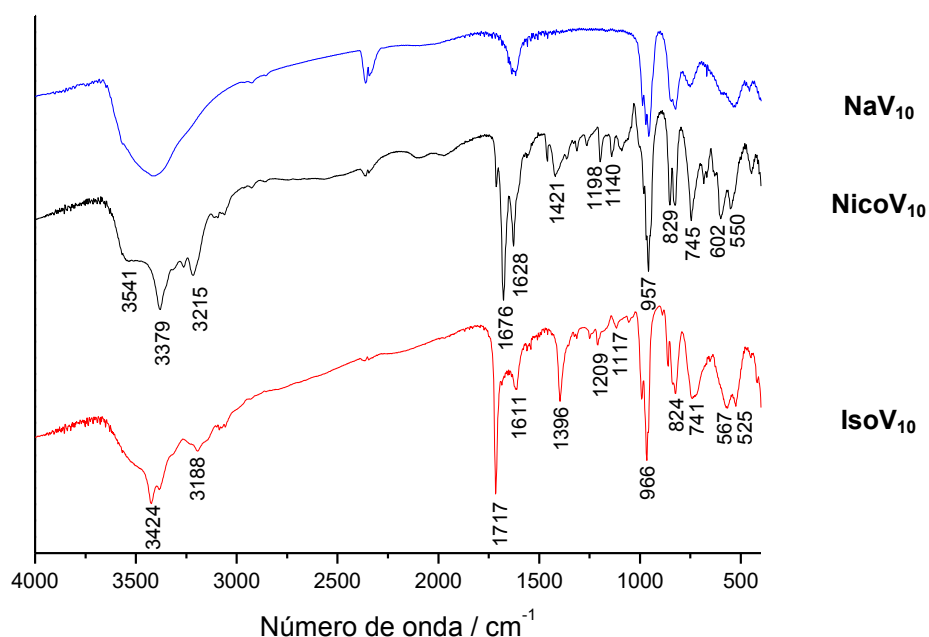


FIGURA 16. Espectros de absorção na região do infravermelho de **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**, em comparação ao de **NaV₁₀**, usado como referência do ânion **V₁₀** sem cátions orgânicos, registrados em pastilhas de KBr.

TABELA 4. ATRIBUIÇÃO TENTATIVA DAS BANDAS REGISTRADAS (cm^{-1}) NOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO OBTIDOS PARA **NicoV₁₀** E **IsoV₁₀**

Atribuição tentativa	NaV₁₀	NicoV₁₀	IsoV₁₀
$\nu(\text{O}-\text{H})$	3421	3541	banda alargada entre 3250 e 3650
$\nu_{\text{as}}(\text{N}-\text{H})$	-	3379	3424
$\nu_{\text{s}}(\text{N}-\text{H})$	-	3215	3188
$\nu(\text{C}=\text{O})$	-	1676	1717
$\delta(\text{NH}_2)$	-	1628	1611
$\delta(\text{C}-\text{H})$	-	1421, 1198 e 1140	1396, 1209 e 1117
$\nu(\text{V}=\text{O})$	955	957	966
$\nu_{\text{as}}, \nu_{\text{s}}$ e $\delta(\text{V}-\text{O}-\text{V})$	827, 752 e 536	829, 745 e 550	824, 741 e 567
$\delta(\text{C}-\text{C})$	-	602	525

ν = estiramento, ν_{as} = estiramento antissimétrico, ν_{s} = estiramento simétrico, δ = deformação angular no plano.

FONTE: GRAIA, M. (2016)¹⁴⁰ e BAKILER, M. (2007).¹⁴¹

Além das absorções citadas acima, o espectro de **NicoV₁₀** apresentou bandas características da nicotinamida em 1676 e 1628 cm⁻¹, referentes, respectivamente, a $\nu(\text{C=O})$ e a $\delta(\text{NH}_2)$ do grupo funcional amida. As bandas que se referem a $\delta(\text{C-H})$ do anel piridínico foram observadas em 1421, 1198 e 1140 cm⁻¹. As bandas que permitem distinguir entre as diferentes substituições nos anéis aromáticos são geralmente observadas na mesma região em que ocorrem as vibrações do polioxoânion, não permitindo a sua distinção.¹⁴²

O espectro de IV para o produto **IsoV₁₀** também apresentou as bandas relativas ao grupamento amida presente na isonicotinamida nas regiões de 1686 e 1607 cm⁻¹, que são correspondentes às vibrações $\nu(\text{C=O})$ e $\delta(\text{NH}_2)$, respectivamente. As bandas da cadeia carbônica também são visualizadas na região de 1396, 1209 e 1117 cm⁻¹ ($\delta(\text{C-H})$), referentes às ligações C-H presentes no anel piridínico da estrutura. Tais bandas sugerem que houve a incorporação da isonicotinamida na estrutura do produto. A maneira como as interações ocorrem entre as moléculas orgânicas e o oxocomposto de vanádio será avaliada através da análise de DRX de monocristal adiante no texto.

5.2.1.2 Espectroscopia de espalhamento Raman

Os produtos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** também tiveram seu padrão vibracional analisado por espectroscopia Raman (FIGURA 17). A TABELA 5 contém as principais atribuições tentativas feitas para os espectros vibracionais dos produtos. Em ambos os espectros, as bandas de deformação angular e estiramentos simétrico e assimétrico das ligações V-O-V do decavanadato foram observadas nas regiões de menor energia, de 800 a cerca de 200 cm⁻¹. A banda referente ao estiramento das ligações V=O entre os centros de vanádio e os oxigênios terminais é vista na região de 960 cm⁻¹.

Os espectros apresentam bandas em regiões semelhantes referentes às respectivas partes orgânicas. As bandas características do grupamento amida da nicotinamida no espectro de **NicoV₁₀** podem ser observadas em 3208, 3069, 1683 e 1614 cm⁻¹, correspondendo respectivamente às vibrações $\nu_{as}(\text{N-H})$, $\nu_s(\text{N-H})$, $\nu(\text{C=O})$ e $\delta(\text{NH}_2)$. As bandas que se referem ao anel piridínico foram observadas na região

intermediária do espectro, de 1400 a 1000 cm^{-1} . Há ainda uma banda correspondente a $\gamma(\text{C-C-C})$ em 394 cm^{-1} .

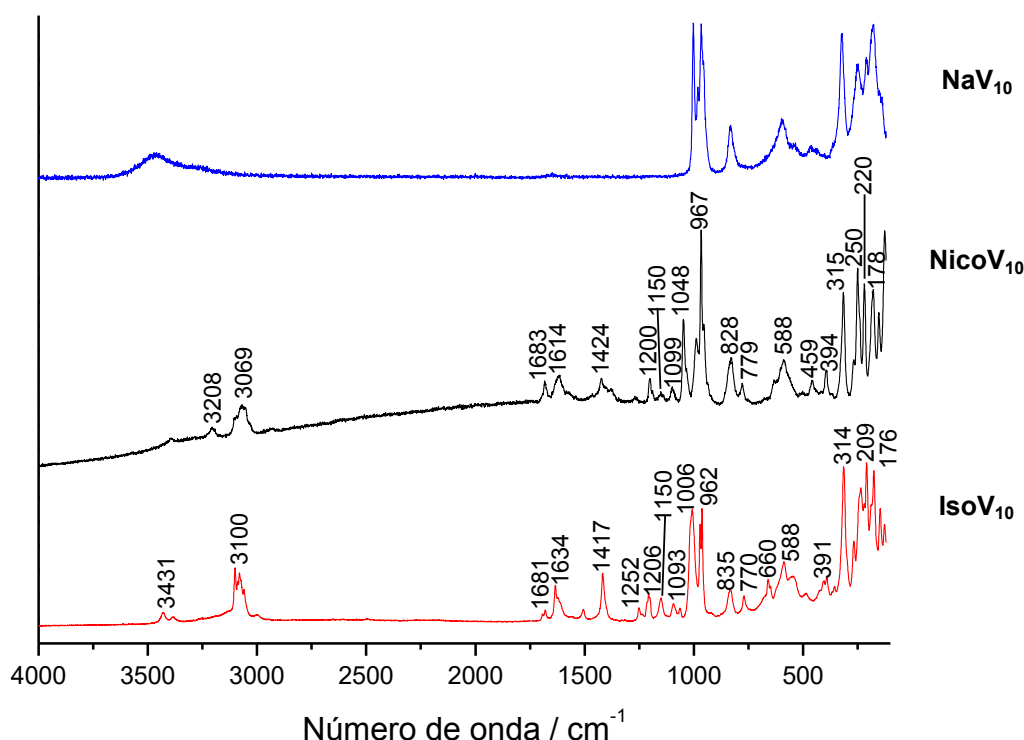


FIGURA 17. Espectros de espalhamento Raman registrados para os produtos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** em comparação com **NaV₁₀**, usado como referência do ânion V₁₀ sem cátions orgânicos.

TABELA 5. ATRIBUIÇÃO TENTATIVA DAS BANDAS REGISTRADAS NO ESPECTRO DE ESPALHAMENTO RAMAN PARA **NicoV₁₀** E **IsoV₁₀**

Atribuição tentativa	NaV₁₀	NicoV₁₀	IsoV₁₀
$\nu_{as}(\text{N-H})$	-	3208	3431
$\nu_s(\text{N-H})$	-	3069	3100
$\nu(\text{C=O})$	-	1683	1681
$\delta(\text{NH}_2)$	-	1614	1634
$\nu(\text{C-C})$	-	1424 e 1048	1417 e 1006
$\nu(\text{C-NH}_2)$	-	1200	1206
$\nu(\text{C-N})_{\text{anel}}$	-	1150	1150
$\delta(\text{C-H})$	-	1099 e 1048	1093 e 1006
$\gamma(\text{C-C-C})$	-	394	391
$\nu(\text{V=O})$	1002 e 966	967	1006 e 962
ν_{as}, ν_s e $\delta(\text{V-O-V})$	831, 525 e 322	828, 779, 588, 459, 315 e 314	835, 770, 660 e 588
$\nu(\text{V-O})$ e vibrações da rede cristalina	247 e 176	250, 220 e 178	209 e 176

ν = estiramento, ν_{as} = estiramento antissimétrico, ν_s = estiramento simétrico, δ = deformação angular no plano, γ = deformação angular fora do plano.

FONTE: RAMALINGAMA, S. (2010),¹⁴³ OTERO, J.C. (2013)¹⁴⁴ e GONZÁLEZ-VERGARA, E. (2016).⁹⁹

Além das bandas referentes ao decavanadato, o espectro Raman registrado para o produto **IsoV₁₀** também apresentou as vibrações atribuídas ao grupamento amida das moléculas ou cátions orgânicos nas regiões de 1681 e 1634 cm⁻¹, correspondentes a $\nu(\text{C=O})$ e $\delta(\text{NH}_2)$, respectivamente. Na região de maior energia do espectro estão as vibrações correspondentes a $\nu_{\text{as}}(\text{N-H})$ e $\nu_{\text{s}}(\text{N-H})$ em 3431 e 3100 cm⁻¹. As bandas do anel piridínico são visualizadas em 1417, 1006 ($\nu(\text{C-C})$), 1150 ($\nu(\text{C-N})$), 1070 ($\delta(\text{C-H})$) e 391 cm⁻¹ ($\gamma(\text{C-C-C})$). Os espectros de espalhamento Raman corroboram os resultados obtidos pela análise por IV.

5.2.1.3 Caracterização por difratometria de raios X de monocristal (DRX de monocristal)

Os cristais alaranjados de **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** foram analisados por DRX de monocristal, confirmando a formação do decavanadato com os cátions nicotinamídio (nicoH⁺) e isonicotinamídio (isoH⁺) como contraíons. As FIGURAS 18 e 19 apresentam os diagramas ORTEP dos produtos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** respectivamente. Os principais dados cristalográficos dos produtos discutidos nesta seção são apresentados na TABELA 6 e os comprimentos e ângulos de ligação selecionados para cada estrutura estão listados na TABELA 7.

A estrutura de (1,3-C₆H₇N₂O)₄[H₂V₁₀O₂₈]·2H₂O·2(C₆H₆N₂O) (**NicoV₁₀**) consiste de um ânion decavanadato duplamente protonado, [H₂V₁₀O₂₈]⁴⁺, associado a quatro cátions nicotinamídio como contraíons, juntamente com duas moléculas neutras de nicotinamida e duas moléculas de água.

Uma estrutura contendo o ânion decavanadato associado a cátions nicotinamídio já havia sido descrita na literatura sem menção ao rendimento do produto.¹³⁶ Apesar de possuírem a mesma célula unitária, o composto da literatura difere de **NicoV₁₀** por ser constituído por um sal do oxoânion totalmente desprotonado, [V₁₀O₂₈]⁶⁻, com seis cátions nicotinamídio como contraíons, não se observando a cocrystalização de moléculas orgânicas neutras.

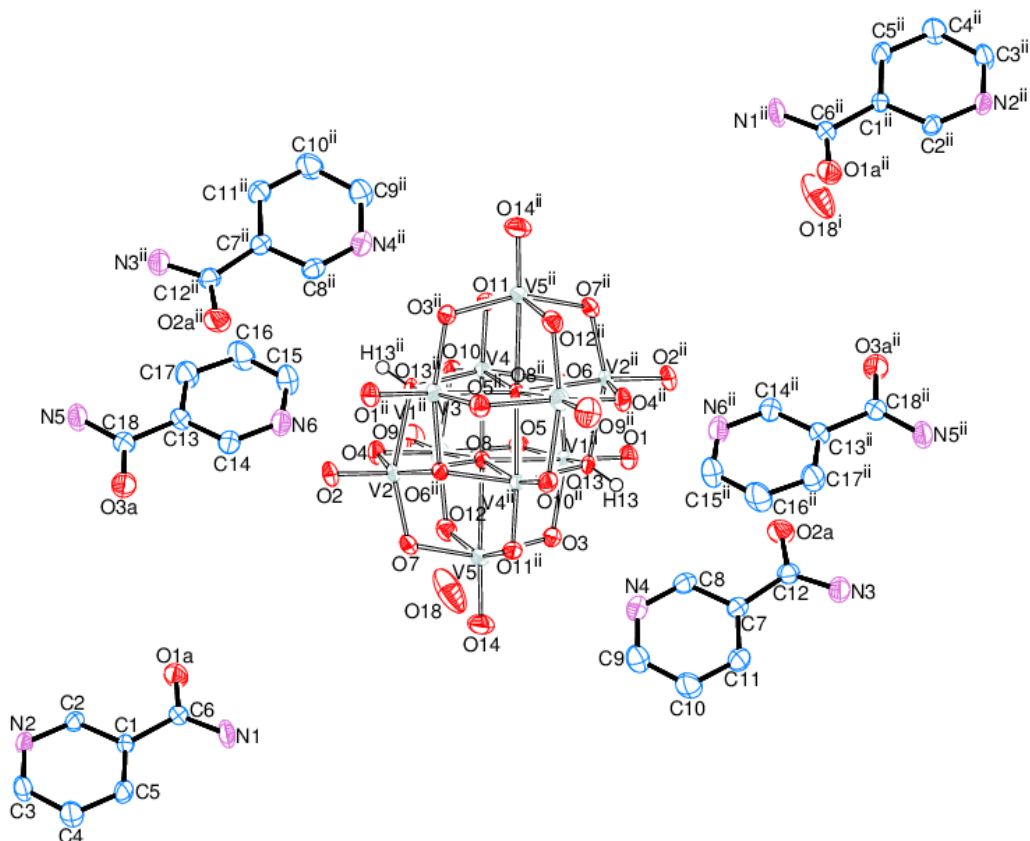


FIGURA 18. Representação ORTEP¹⁴⁵ da estrutura do produto **NicoV₁₀**, (1,3-C₆H₇N₂O)₄[H₂V₁₀O₂₈]·2H₂O·2C₆H₆N₂O, com o esquema de numeração dos átomos. Para maior clareza, os átomos de hidrogênio das moléculas orgânicas foram removidos da representação. As elipsóides estão apresentadas com 50% de probabilidade.

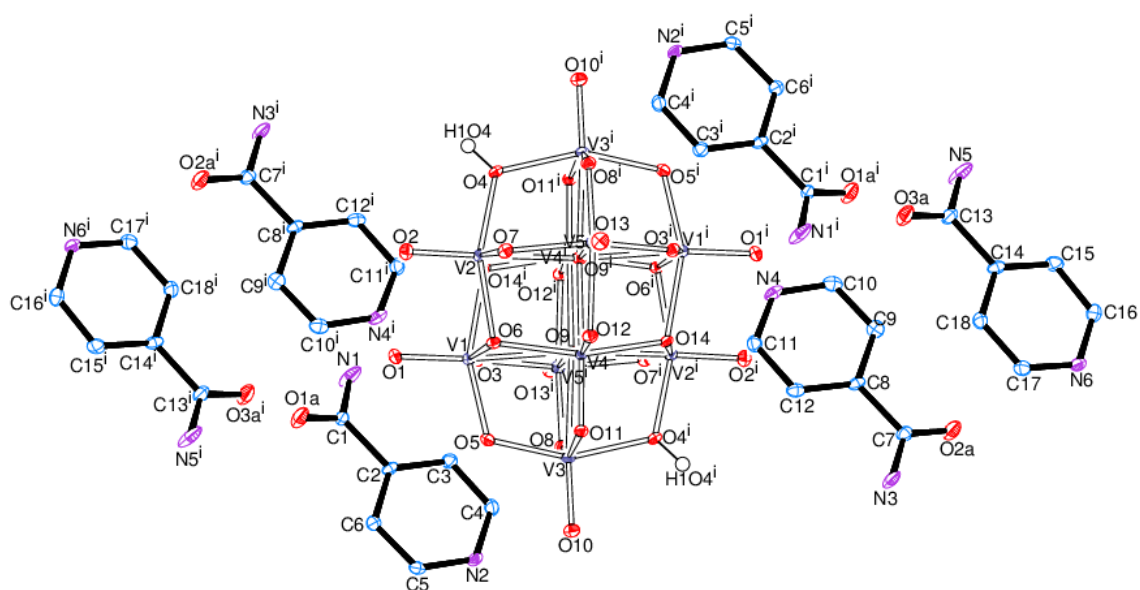


FIGURA 19. Representação ORTEP¹⁴⁵ da estrutura do produto **IsoV₁₀**, (1,4-C₆H₇N₂O)₄[H₂V₁₀O₂₈]·2C₆H₆N₂O, com o esquema de numeração dos átomos. Para maior clareza, os átomos de hidrogênio das moléculas orgânicas foram removidos da representação. As elipsóides estão apresentadas com 50% de probabilidade.

TABELA 6. DADOS CRISTALOGRAFICOS E DE REFINAMENTO PARA
 $(1,3\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}\cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (**NicoV₁₀**) E $(1,4\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (**IsoV₁₀**)

	NicoV₁₀	IsoV₁₀
Fórmula empírica	$\text{H}_2\text{O}_{28}\text{V}_{10}, 4(\text{C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O}), 2(\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}), 2(\text{H}_2\text{O})$	$\text{H}_2\text{O}_{28}\text{V}_{10}, 4(\text{C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O}), 2(\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O})$
Massa molar/ g.mol ⁻¹	1732,25	1696,21
Sistema cristalino, grupo espacial	Monoclínico, C 2/c (nº 15)	Triclínico, P-1
a/ Å	25,8951(11)	9,3942(9)
b/ Å	9,5597(4)	10,2468(9)
c/ Å	23,8816(10)	14,0204(13)
α/ °	90	82,984(4)
β/ °	107,278(2)	81,607(4)
γ/ °	90	88,817(4)
Volume/ Å ³	5645,1(4)	1325,2(2)
Z	4	1
Densidade/ mg/m ³	2,038	2,126
F(000)	3456	844
Coeficiente de absorção/ mm ⁻¹	1,690	1,795
Dimensões do cristal/ mm	0,310 x 0,234 x 0,124	0,129 x 0,091 x 0,034
Faixa de coleta de dados (ângulo θ)/ °	3,6 a 27,5	3,6 a 27,5
Número de reflexões coletadas	59393	57076
Número de reflexões independentes	6469 [R(int) = 0,051]	6081 [R(int) = 0,092]
Qualidade de ajuste no F ²	1,052	1,032
R (dados observados)	R ₁ = 0,030, wR ₂ = 0,075	R ₁ = 0,035, wR ₂ = 0,072
R total	R ₁ = 0,046, wR ₂ = 0,080	R ₁ = 0,056, wR ₂ = 0,079
Maior densidade eletrônica residual no mapa de diferença (pico e buraco)/ e.Å ⁻³	0,44 e -0,32	0,48 e -0,48
Localização da densidade eletrônica residual	Próximo ao H(18B)	Na ligação C13-C14

NicoV₁₀: $w = [\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0,0389 \cdot \text{P})^2 + 7,4351 \cdot \text{P}]^{-1}$ onde $\text{P} = (\text{Fo}^2 + 2\text{Fc}^2)/3$
IsoV₁₀: $w = [\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0,0299 \cdot \text{P})^2 + 1,9201 \cdot \text{P}]^{-1}$ onde $\text{P} = (\text{Fo}^2 + 2\text{Fc}^2)/3$

Na rede cristalina de **NicoV₁₀**, os ânions decavanadato estão associados uns aos outros por meio de ligações de hidrogênio entre os grupos oxo (O²⁻) do polioxoânion e os hidrogênios das moléculas de água de cristalização (FIGURA 20). Os dois cátions nicotinamídio e uma das moléculas de nicotinamida também atuam como pontes entre diferentes ânions decavanadato na rede cristalina (FIGURA 20). As moléculas orgânicas cocrystalizadas, por sua vez, são estabilizadas pelo empilhamento π - π que fazem com os cátions nicotinamídio; nestas interações, as distâncias entre as centroides variam entre 3,5 e 3,6 Å.

TABELA 7. COMPRIMENTOS (Å) E ÂNGULOS (°) DE LIGAÇÃO SELECIONADOS PARA **NicoV₁₀** E **IsoV₁₀** COM DESVIOS-PADRÃO ESTIMADOS ENTRE PARÊNTESES

<i>Comprimentos de ligação (decavanadato)</i>			
Tipo de ligação	(1,3-C ₆ H ₇ N ₂ O) ₄ [H ₂ V ₁₀ O ₂₈]·2H ₂ O·2C ₆ H ₆ N ₂ O (NicoV₁₀)		(1,4-C ₆ H ₇ N ₂ O) ₄ [H ₂ V ₁₀ O ₂₈]·2C ₆ H ₆ N ₂ O (IsoV₁₀)
V-μ-OH	-		V(3)#1-O(4) 1,9307(19)
V-μ-O	V(1)-O(3)	1,8623(15)	V(1)-O(3) 1,8118(18)
	V(1)-O(5)	1,7446(15)	V(1)-O(5) 1,8272(18)
	V(2)-O(7)	1,7575(15)	V(2)-O(7) 1,7571(18)
	V(3)-O(10)	2,0635(15)	V(3)-O(11) 2,0599(18)
	V(3)-O(4)	1,8397(15)	
	V(3)-O(12)	1,8307(16)	V(3)-O(8) 1,8312(18)
	V(4)-O(10)	1,6784(15)	V(4)-O(11) 1,6814(17)
	V(5)#1-O(11)	2,0533(15)	V(5)-O(12) 2,0568(18)
V-μ ₃ -O	V(1)-O(6)	1,9747(14)	V(1)-O(6) 2,0080(18)
	V(2)#1-O(6)	1,9753(14)	V(2)-O(6) 1,9388(17)
	V(4)-O(6)	1,8895(13)	V(4)-O(6) 1,9303(18)
V-μ ₃ -OH	V(1)-O(13)	2,0854(15)	-
	V(2)#1-O(13)	2,0768(15)	
	V(4)#1-O(13)	1,9946(14)	
V-μ ₆ -O	V(1)-O(8)	2,2570(13)	V(1)-O(9) 2,2506(18)
	V(2)-O(8)	2,2381(13)	V(2)#1-O(9) 2,2268(18)
	V(3)-O(8)	2,3387(14)	V(3)-O(9) 2,3057(17)
	V(4)-O(8)	2,1121(14)	V(4)-O(9) 2,1153(18)
	V(4)#1-O(8)	2,1164(14)	V(4)#1-O(9) 2,1216(17)
	V(5)-O(8)	2,3371(14)	V(5)#1-O(9) 2,3465(18)
V-O _{terminal}	V(1)-O(1)	1,6089(15)	V(1)-O(1) 1,6065(18)
	V(3)-O(9)	1,5988(17)	V(3)-O(10) 1,6034(18)
<i>Comprimentos de ligação (componentes orgânicos)</i>			
Anel piridínico	N(2)-C(2)	1,335(3)	N(6)-C(16) 1,338(3)
Grupamento amida	C(1)-C(6)	1,498(3)	C(13)-C(14) 1,520(4)
	C(6)-N(1)	1,314(3)	C(13)-N(5) 1,335(4)
	C(6)-O(1A)	1,239(3)	C(13)-O(3A) 1,223(3)
<i>Ângulos (decavanadato)</i>			
V-(μ-OH)-V	-		V(2)-O(4)-V(3)#1 113,89(9)
V-(μ-O)-V	V(5)-O(3)-V(1)	114,59(7)	V(5)#1-O(3)-V(1) 115,23(9)
	V(3)-O(4)-V(2)	113,59(7)	
	V(1)-O(5)-V(3)	116,04(8)	V(1)-O(5)-V(3) 113,74(9)
	V(2)-O(7)-V(5)	114,79(7)	V(2)-O(7)-V(5) 114,10(9)
V-(μ ₃ -O)-V	V(4)-O(6)-V(1)	107,12(6)	V(4)-O(6)-V(2) 106,04(8)
	V(4)-O(6)-V(2)#1	106,98(7)	V(4)-O(6)-V(1) 107,58(8)
	V(1)-O(6)-V(2)#1	105,74(6)	V(2)-O(6)-V(1) 103,13(8)
V-(μ ₃ -OH)-V	V(4)#1-O(13)-V(2)#1	106,50(6)	-
	V(4)#1-O(13)-V(1)	107,07(6)	
	V(2)#1-O(13)-V(1)	98,33(6)	
V-(μ ₆ -O)-V	V(4)-O(8)-V(4)#1	102,39(6)	V(4)-O(9)-V(4)#1 101,71(8)
	V(4)#1-O(8)-V(5)	87,81(5)	V(4)#1-O(9)-V(5)#1 87,82(6)
	V(4)-O(8)-V(3)	87,66(5)	V(4)-O(9)-V(3) 88,09(6)
	V(5)-O(8)-V(3)	82,28(5)	V(5)#1-O(9)-V(3) 82,35(6)
	V(2)-O(8)-V(1)	167,24(7)	V(2)#1-O(9)-V(1) 168,69(9)
<i>Ângulos (componentes orgânicos)</i>			
Anel piridínico	C(3)-N(2)-C(2)	118,92(19)	C(17)-N(6)-C(16) 119,10(2)
	C(5)-C(1)-C(6)	124,73(19)	C(18)-C(14)-C(13) 118,30(2)
Grupamento amida	N(1)-C(6)-C(1)	117,4(2)	N(5)-C(13)-C(14) 115,9(3)
	O(1A)-C(6)-C(1)	119,8(2)	O(3A)-C(13)-C(14) 119,9(2)
	O(1A)-C(6)-N(1)	122,8(2)	O(3A)-C(13)-N(5) 124,2(3)

Operações de simetria usadas para gerar átomos equivalentes em **NicoV₁₀**: #1 -x+1,-y+1,-z+1.Operações de simetria usadas para gerar átomos equivalentes em **IsoV₁₀**: #1 -x+1,-y+1,-z+1

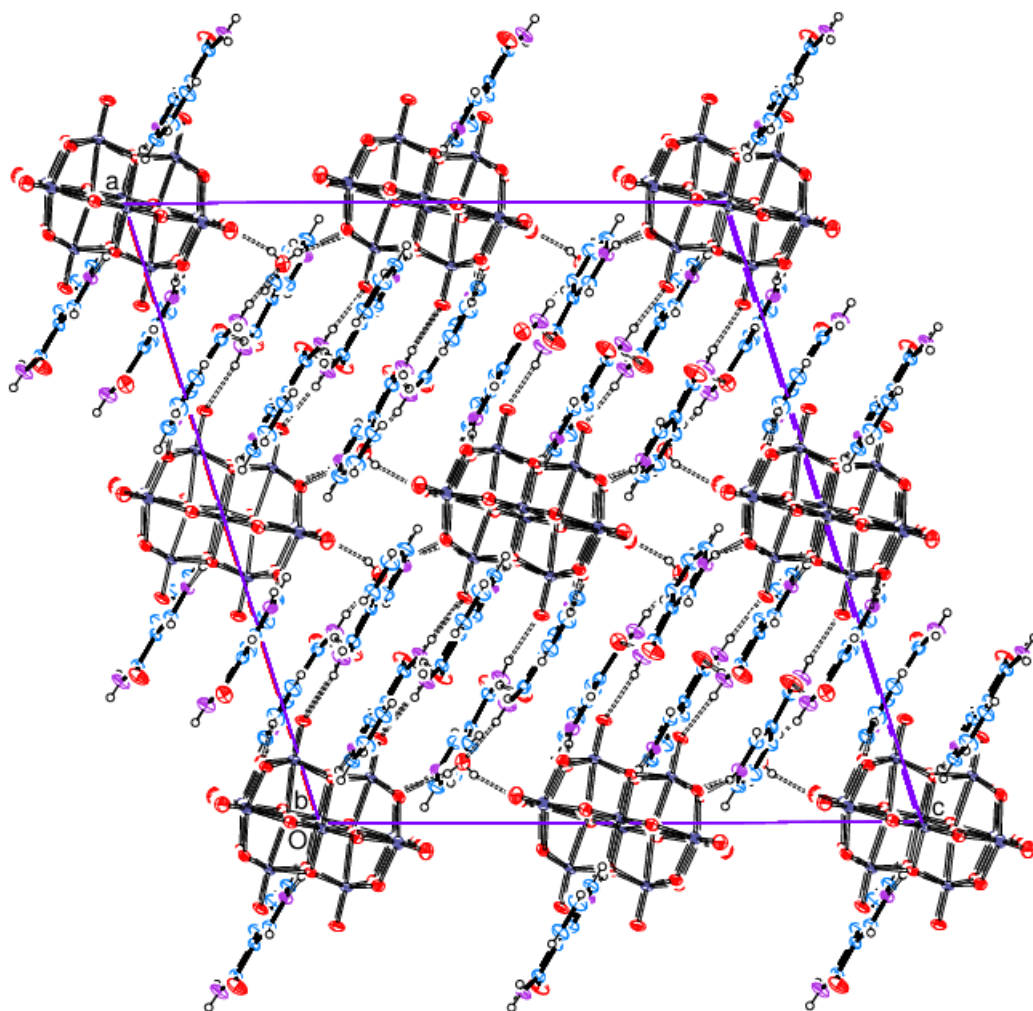


FIGURA 20. Empacotamento cristalino de **NicoV₁₀** ao longo do eixo b, mostrando as ligações de hidrogênio que estabilizam a estrutura cristalina do produto. A distribuição quase paralela dos anéis aromáticos pode ser vista nesta figura. As elipsóides estão apresentadas com 50% de probabilidade.

O produto **IsoV₁₀** é análogo ao **NicoV₁₀**. A fórmula unitária de $(1,4\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2(\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O})$ (**IsoV₁₀**), também um cocrystal, apresenta o ânion decavanadato duplamente protonado, quatro cátions isonicotinamídio e duas moléculas de isonicotinamida neutras. As interações intermoleculares se dão através de ligações de hidrogênio entre o polioxoânion e os cátions e moléculas de isonicotinamida ao seu redor (FIGURA 21). As unidades orgânicas ainda interagem entre si através de ligações de hidrogênio, as quais envolvem os grupamentos amida, e por empilhamento π - π entre os anéis aromáticos, com distância entre as centroides de cerca de 3,6 Å. Em contraste com **NicoV₁₀**, a estrutura de **IsoV₁₀** não apresenta moléculas de água de cristalização.

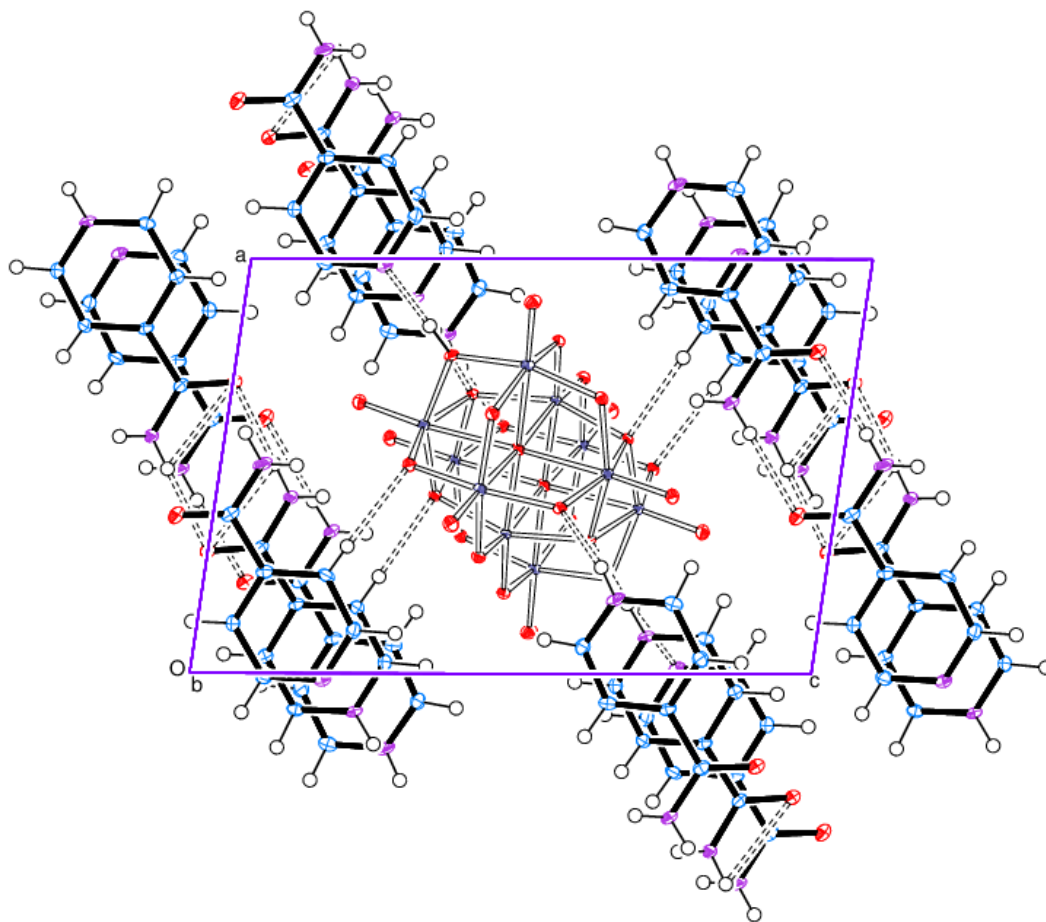


FIGURA 21. Empacotamento cristalino de **IsoV₁₀** ao longo do eixo b, mostrando as ligações de hidrogênio que estabilizam a estrutura cristalina do produto. As elipsóides estão representadas com 50% de probabilidade.

Os ângulos e comprimentos de ligação do decavanadato em **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** são similares aos já relatados para este agregado.^{80; 136} O comprimento das ligações V-O varia de V=O (1,60 Å) < V- μ_2 -O (1,85 Å) < V- μ_2 -OH (1,92 Å) < V- μ_3 -O (2,00 Å) < V- μ_3 -OH (2,05 Å) < V- μ_6 -O (2,23 Å) devido à variação da densidade eletrônica em torno dos átomos de oxigênio envolvidos em ligações. A distância O-H média nos dois produtos é igual a 0,84 Å.

Cálculos teóricos pelo método de Hartree-Fock demonstraram que as interações intermoleculares mais fortes (ligações de hidrogênio do tipo O-H...O e N-H...O, por exemplo) envolvendo o íon decavanadato e outras moléculas ou íons envolvem preferencialmente os sítios O_b e O_c (FIGURA 22c), os quais estão entre os mais básicos no ânion.^{146; 147} Estes sítios são exatamente os locais onde a protonação ocorre em **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** respectivamente (FIGURA 22). As diferenças de posições entre os substituintes do anel aromático em nicoH⁺ e isoH⁺,

que geram uma malha diversa de ligações de hidrogênio no retículo cristalino, podem alterar os locais de protonação preferenciais no decavanadato.¹⁴⁸

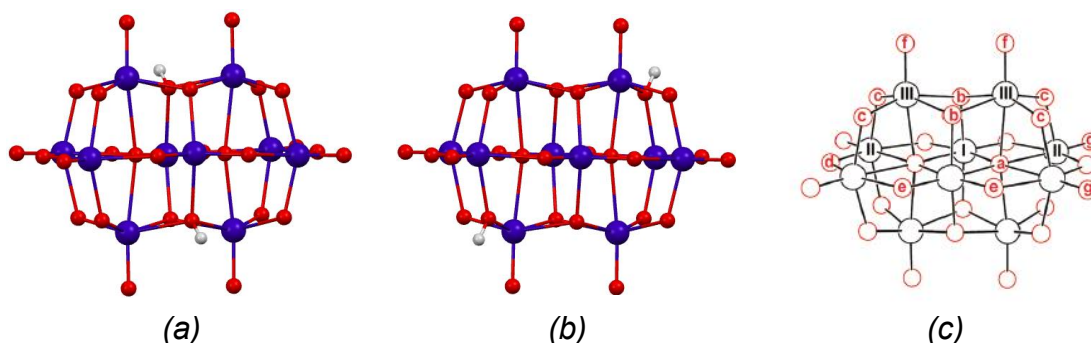


FIGURA 22. Diagramas de bolas e bastões evidenciando a protonação do ânion $[H_2V_{10}O_{28}]^{4-}$ em (a) **NicoV₁₀** e (b) **IsoV₁₀**. As bolas azuis, vermelhas e brancas representam vanádio(V), oxigênio e hidrogênio respectivamente. (c) Diagrama que identifica os sítios de diferentes densidades de carga negativa no ânion decavanadato: Ob > Oe > Oc > Od > Of > Og. FONTE: Adaptado de SPASOJEVIĆ-DE-BIRÉ, A. (2011).⁹⁷

Há na literatura somente um relato de outro cocrystal contendo o ânion decavanadato associado apenas a entidades orgânicas,¹⁴⁹ ou seja, sem contraíons inorgânicos. Nele, a síntese do $[HV_{10}O_{28}]^{5-}$ com 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano em diferentes graus de protonação foi feita em um reator sob radiação de micro-ondas a partir do V_2O_5 . Assim como em **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**, há moléculas orgânicas cocrystalizadas na estrutura do produto. A diferença está em que, no composto citado, o decavanadato encontra-se monoprotonado e dois cátions orgânicos diprotonados e um monoprotonado fazem o balanço de carga para o ânion.

Um cocrystal é formado a partir de interações supramoleculares entre entidades neutras diferentes, formando uma rede cristalina bem definida.¹⁵⁰ Se essas entidades possuírem uma diferença de pKa (ΔpKa) maior do que três, então a formação de um sal é favorecida; se o ΔpKa estiver entre zero e três, há preferência pela cocrystalização de espécies químicas neutras e carregadas.¹⁵¹ A TABELA 8 apresenta os pKas da nicotinamida, da isonicotinamida e do decavanadato em seus diferentes estados de protonação.

TABELA 8. VALORES DOS PKAS DAS ESPÉCIES ENVOLVIDAS NOS PRODUTOS **NicoV₁₀** E **IsoV₁₀**

Espécie	pKa
Nicotinamídio (nicoH ⁺)	3,35
Isonicotinamídio (isoH ⁺)	3,67
$[HV_{10}O_{28}]^{5-}$	5,5-6,0
$[H_2V_{10}O_{28}]^{4-}$	3,1-3,7
$[H_3V_{10}O_{28}]^{3-}$	< 2

As formulações propostas para **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** no presente trabalho podem ser fundamentadas na diferença de pKa entre os precursores ácidos das espécies químicas no cristal.¹⁵¹ Neste caso, o pKa de $[H_3V_{10}O_{28}]^{3-}$ é igual a 1,21 (em uma força iônica de 0,6 mol L⁻¹ de NaCl),^{76; 152} ao passo que os pKas dos cátions nicotinamídio e isonicotinamídio é 3,35 e 3,67, respectivamente.¹⁵¹ Isso indica que os ânions ácidos $[H_3V_{10}O_{28}]^{3-}$ podem protonar ambas as moléculas orgânicas de maneira eficaz para produzir os íons $[H_2V_{10}O_{28}]^{4-}$, nicotinamídio e isonicotinamídio descritos neste trabalho. Uma vez formados, os ânions $[H_2V_{10}O_{28}]^{4-}$ apresentam um pKa de 3,61, próximo àqueles dos cátions piridínio e, assim, a diferença de pKa não favorece uma segunda desprotonação do ânion. Nesse contexto, moléculas neutras de nicotinamida e isonicotinamida no meio aquoso poderiam cocrystalizar juntamente ao produto iônico, como observado em **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**. Por outro lado, $[HV_{10}O_{28}]^{5-}$ (pK_a = 6,07 na mesma força iônica) e o nicotinamídio apresentam uma grande diferença de pKa (2,72) a favor do cátion piridínio mais ácido. Isso sugere a direção oposta da reação de protonação, produzindo $[H_2V_{10}O_{28}]^{4-}$ (e a nicotinamida neutra) ao invés do ânion $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ completamente desprotonado. Portanto, as diferenças de pKa parecem favorecer a formulação $(1,3-C_6H_7N_2O)_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 2(C_6H_6N_2O) \cdot 2H_2O$ aqui proposta para **NicoV₁₀** ao invés de $(1,3-C_6H_7N_2O)_6[V_{10}O_{28}] \cdot 2H_2O$, proposta anteriormente. Entretanto, as condições de síntese foram diferentes em cada caso e poderiam justificar os diferentes graus de protonação nos produtos resultantes.

O produto **NicoV₁₀** foi obtido por todos os métodos de síntese testados ao longo deste trabalho. Já **IsoV₁₀** foi obtido apenas quando V₂O₅ foi utilizado como material de partida, sem a interferência de outros cátions no meio de reação. Estes resultados podem estar associados às interações intermoleculares entre as moléculas orgânicas, e destas com o decavanadato. Em **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**, a diferença entre as duas estruturas parece estar na rede de ligações de hidrogênio formada entre o decavanadato e os cátions e moléculas orgânicas (TABELA 9). Esta malha supramolecular é de grande importância para a estabilização de toda a estrutura.⁸⁹

TABELA 9. COMPRIMENTOS (Å) E ÂNGULOS (°) MÉDIOS DAS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO ENVOLVENDO O ÂNION DECAVANADATO EM **NicoV₁₀** E **IsoV₁₀**

Tipo de ligação	NicoV₁₀		IsoV₁₀	
	Comprimento	Ângulo	Comprimento	Ângulo
O _{deca} -H...N	2,562	174	2,554	175
N-H... O _{deca(term)}	2,908*	159*	2,983	149
N-H... O _{deca(μ2)}	2,658*	168*	2,672	146
N-H... O _{deca(μ3)}	-	-	2,547	172
C-H... O _{deca}	3,082	154	3,152	176

O_{deca} = oxigênio do decavanadato; O_{deca(μ2)} = oxigênio do decavanadato em ponte dupla; O_{deca(μ3)} = oxigênio do decavanadato em ponte tripla.

*Comprimentos e ângulos calculados através da média aritmética dos valores.

Além de possuir uma malha de ligações de hidrogênio mais extensa do que a de **IsoV₁₀**, o produto **NicoV₁₀** possui ligações de hidrogênio mais fortes, o que se pode inferir pelos comprimentos e ângulos das ligações descritos na TABELA 9.¹⁵³ Apesar de ambos os produtos possuírem uma ligação de hidrogênio mais fraca do tipo C-H...O (na ordem de 3,1 Å), as demais ligações, do tipo N-H...O, são mais fortes em **NicoV₁₀** do que em **IsoV₁₀**. Os ângulos dessas ligações no primeiro produto, bem mais próximos de 180° (159° e 168°) do que em **IsoV₁₀** (149° e 146°), comprovam a natureza mais forte das ligações N-H...O em **NicoV₁₀**. As moléculas de água de cristalização no retículo cristalino deste último também permitem o estabelecimento de mais ligações de hidrogênio entre as espécies, o que também contribui para aumentar a estabilidade do produto.

5.2.1.4 Análise elementar

Os resultados da análise elementar de **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** são apresentados na TABELA 10. Os valores obtidos são próximos aos esperados para as formulações determinadas por difratometria de raios X de monocristal, confirmando a pureza dos produtos.

TABELA 10. RESULTADO DA ANÁLISE ELEMENTAR PARA OS PRODUTOS **NicoV₁₀** E **IsoV₁₀**

Produtos	Teores (% m/m)			
	V ⁺	C [#]	H [#]	N [#]
Obtido para NicoV₁₀	30,30%	24,93%	2,69%	9,81%
Calculado para C₃₆H₄₆N₁₂O₃₆V₁₀	29,40%	24,96%	2,68%	9,70%
Obtido para IsoV₁₀	30,60%	25,55%	2,59%	9,87%
Calculado para C₃₆H₄₂N₁₂O₃₄V₁₀	30,03%	25,49%	2,50%	9,91%

*Teores determinados por titulometria. [#]Teores determinados por combustão.

5.2.1.5 Caracterização por análise termogravimétrica

Análises termogravimétricas são geralmente empregadas para avaliar a estabilidade térmica de diversas substâncias, incluindo fármacos¹⁵⁴ e polímeros.¹⁵⁵ No presente estudo, esta análise foi empregada para correlacionar o perfil de decomposição térmica dos compostos com a natureza química das amostras e com a descrição das interações intermoleculares presentes na rede cristalina. As FIGURAS 23 e 24 mostram os termogramas obtidos para **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**.

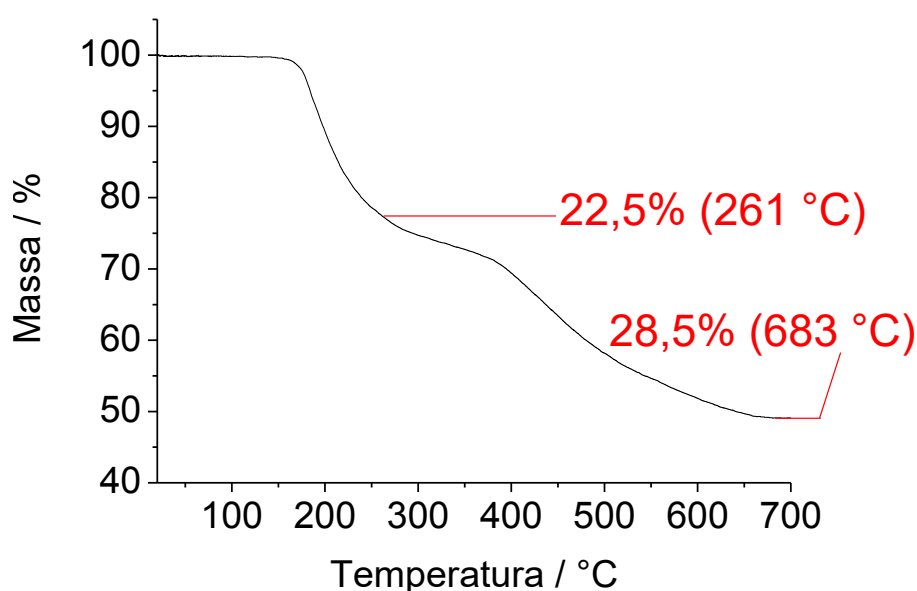


FIGURA 23. Termograma registrado para **NicoV₁₀**, evidenciando as perdas de massa e as temperaturas em que elas ocorrem.

O termograma obtido para **NicoV₁₀** apresentou duas perdas de massa, com um primeiro platô em 261 °C que foi atribuído à perda de duas moléculas de água de cristalização e duas moléculas de nicotinamida. O segundo platô, em 683 °C, corresponde à perda dos quatro cátions nicotinamídio que fazem o balanço de carga do decavanadato (FIGURA 23).

Os valores calculado (28,2%) e encontrado (28,5%) para a decomposição dos quatro cátions nicotinamídios são bastante próximos entre si. No entanto a perda de massa calculada (16,1%) foi diferente da perda real (22,5%) para as duas moléculas de água e duas de nicotinamida. Este comportamento foi anteriormente observado para o composto $(\text{HImz})_{12}(\text{V}_{10}\text{O}_{28})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Imz = Imidazol)¹⁵⁶ e

provavelmente se deve a uma possível oxidação das moléculas orgânicas antes da sua decomposição térmica.

O termograma do produto **IsoV₁₀**, por sua vez, apresentou um platô em 290 °C correspondente à perda de duas moléculas de isonicotinamida e dois cátions isonicotinamídio. Os outros dois cátions isonicotinamídio foram perdidos até 390 °C, indicando que existem modos de interação diferentes dos contraíons com o ânion decavanadato na rede cristalina (FIGURA 24). As porcentagens de perda de massa encontradas, de 30,8% e 13,0%, estão próximas aos valores calculados para a decomposição térmica de quatro (28,8%) e duas (14,4%) unidades de isonicotinamida respectivamente.

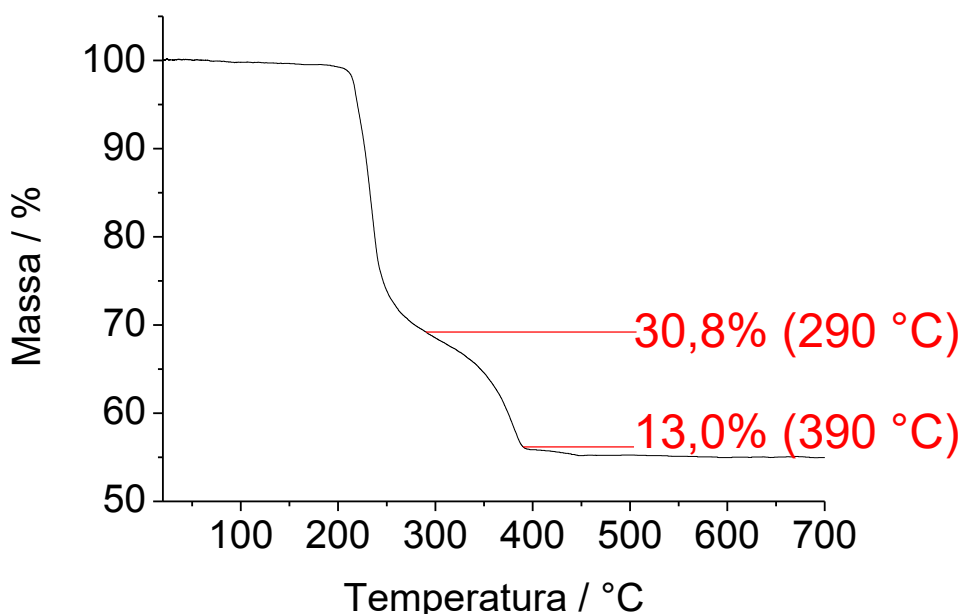


FIGURA 24. Termograma registrado para **IsoV₁₀**, evidenciando as perdas de massa e as temperaturas em que elas ocorrem.

As diferentes temperaturas observadas em **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** para a perda das partes orgânicas parecem ser determinadas não somente pelas suas interações não covalentes com o V₁₀, mas também por diferenças nítidas nos padrões de ligações de hidrogênio entre os grupos amida nos dois produtos. Em **NicoV₁₀**, a posição 1,3 dos substituintes no anel piridínico impede a formação de homodímeros nessa estrutura cristalina e isso, em conjunto com a presença das moléculas de água cocrystalizadas, determina a formação de múltiplas interações envolvendo todos os componentes da célula unitária, neutros ou iônicos (FIGURA 25). Consequentemente, a maior temperatura em que os cátions orgânicos são perdidos

neste produto reflete tanto as forças eletrostáticas entre os íons quanto a estabilização promovida pela extensa rede de ligações de hidrogênio que envolve as moléculas de água, os cátions e as espécies nicotinamida- V_{10} .

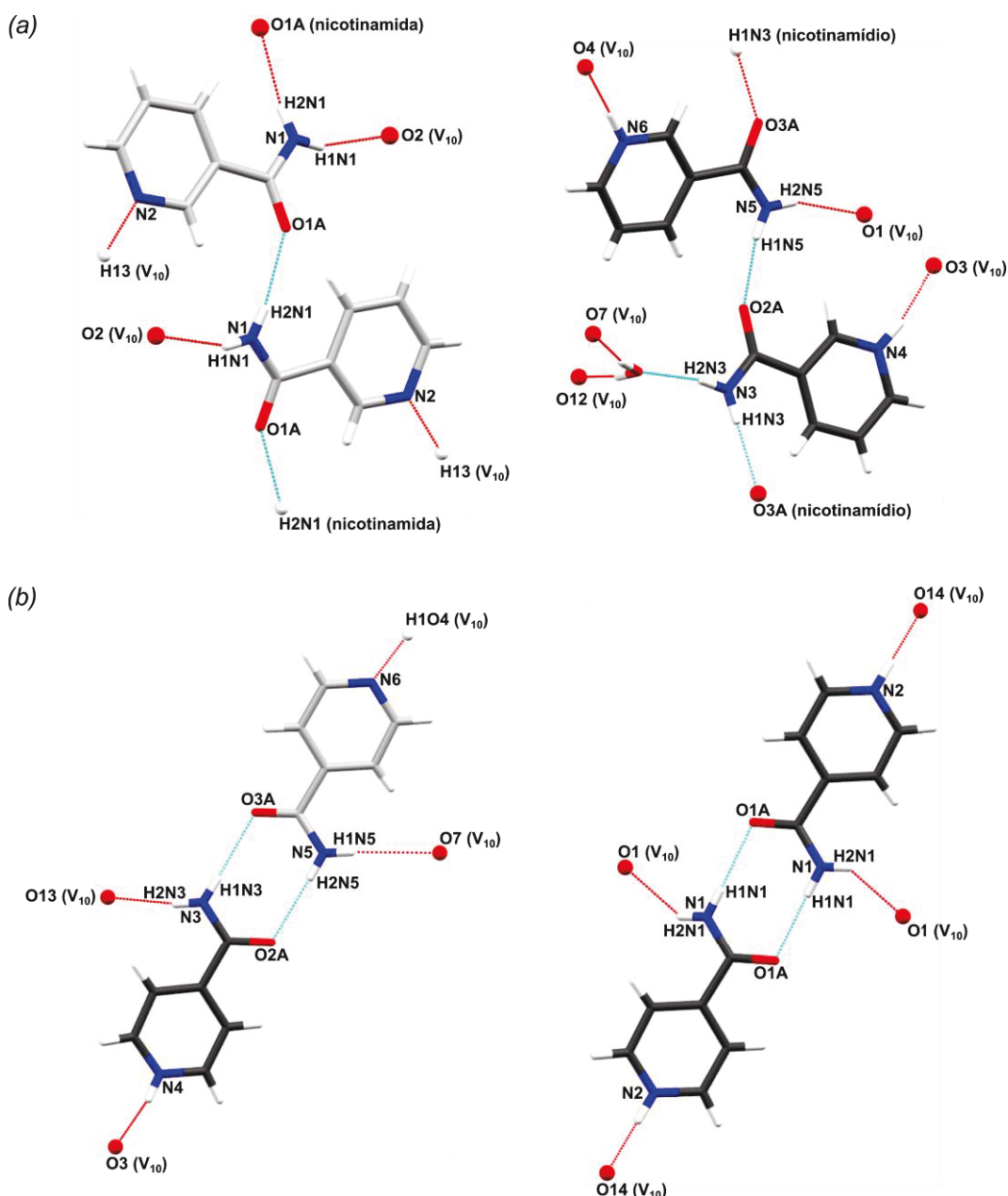


FIGURA 25. Ligações de hidrogênio intermoleculares nas estruturas cristalinas de (a) **NicoV₁₀**, mostrando as interações entre duas moléculas de nicotinamida (à esquerda) e dois cátions nicotinamídio (à direita); e (b) **IsoV₁₀**, em que ligações de hidrogênio fortes (N3–H1N3···O3A e N5–H2N5···O2A) formam o homodímero isonicotinamida-isonicotinamídio (à esquerda) ou ligam dois cátions isonicotinamídio (N1–H1N1···O1A, à direita). Todas as figuras também mostram as interações com o ânion V_{10} . Os átomos de carbono estão representados em cinza escuro nos cátions e em cinza claro nas moléculas neutras.

5.2.2 Caracterização em solução

5.2.2.1 Caracterização por ressonância magnética nuclear (RMN de ^1H e de ^{51}V)

Quando em solução, o ânion decavanadato pode ser mantido intacto ou estabelecer um equilíbrio com outros vanadatos mais simples contendo de um até cinco centros de vanádio(V). A composição destas soluções é bastante variável e depende de fatores como a concentração de vanádio, o pH e a força iônica do meio.^{74; 76}

Visando a avaliar a composição das espécies contendo vanádio geradas em solução, os produtos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** foram analisados por RMN de ^1H e ^{51}V , à temperatura ambiente, empregando soluções nas concentrações de decavanadato de 1,0 e 5,0 mmol L⁻¹ em D₂O. Para ajudar na análise dos resultados, o decavanadato de sódio, $[\{\text{Na}_6(\text{H}_2\text{O})_{20}\text{V}_{10}\text{O}_{28}\cdot 4\text{H}_2\text{O}\}_n]$ (**NaV₁₀**), empregado como referência nos ensaios com as bactérias, foi analisado nas mesmas concentrações. O pH medido após a dissolução das amostras de **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** foi igual a 5, enquanto o das amostras de **NaV₁₀** foi igual a 7.

5.2.2.1.1 RMN de ^1H

Os espectros de RMN de ^1H apresentados na FIGURA 26 são compatíveis com a presença das moléculas orgânicas, mas não permitem a diferenciação entre cátions e moléculas neutras. O espectro de **NicoV₁₀** apresenta quatro sinais correspondentes aos quatro diferentes tipos de hidrogênio presentes na nicotinamida: um duplete em 9,14 ppm, um duplo duplete em 8,89 ppm e um duplo tripleto em 8,68 ppm, atribuídos aos hidrogênios H1, H2 e H4, respectivamente, e um duplo duplo duplete em 7,97 ppm referente ao hidrogênio H3 da estrutura da nicotinamida apresentada na FIGURA 26.¹⁵⁷

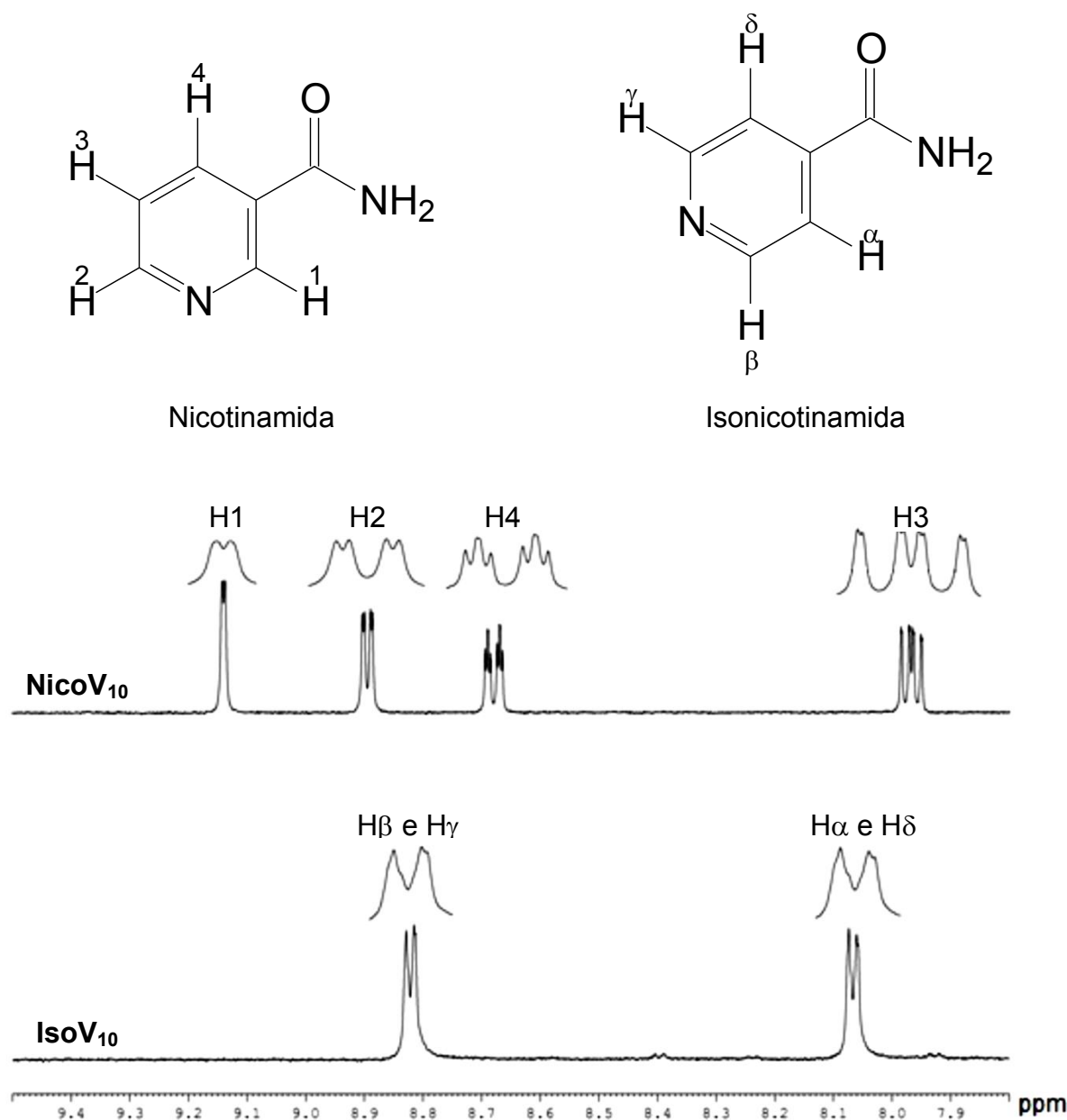


FIGURA 26. Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ registrados à temperatura ambiente para os produtos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** a $1,0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

As multiplicidades dos sinais sugerem um acoplamento de ^1J até ^4J . A blindagem dos hidrogênios está na ordem $\text{H1} < \text{H2} < \text{H4} < \text{H3}$, sendo que H1 sofre efeito indutivo retirador de elétrons tanto do nitrogênio da piridina quanto do grupamento amida adjacente a ele; H2 sofre efeito indutivo retirador de elétrons do nitrogênio da piridina, o qual é maior do que o efeito exercido pelo grupamento amida adjacente ao H4.

O espectro de RMN de ^1H de **IsoV₁₀** apresenta dois duplos dupletos: um na região de deslocamento químico $\delta = 8,90 \text{ ppm}$, correspondente aos hidrogênios

adjacentes ao nitrogênio do anel piridínico (β e γ), e outro em 8,14 ppm correspondente aos hidrogênios adjacentes ao grupamento amida (α e δ) (FIGURA 26). Os hidrogênios β e γ sofrem deslocamento para maior frequência pois o nitrogênio do anel piridínico retira densidade eletrônica dos mesmos por efeito indutivo. Isso faz com que eles sejam menos blindados em relação à influência do campo magnético aplicado. A multiplicidade dos sinais indica que há acoplamento até 4J entre os hidrogênios presentes na isonicotinamida ($J = 1,19$ e $5,23$ Hz).¹⁵⁸

5.2.2.1.2 RMN de ^{51}V em D_2O

Os espectros de RMN de ^{51}V registrados para **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** são bastante semelhantes entre si. Para avaliar a influência dos cátions orgânicos como contraíons do ânion decavanadato, ambos os espectros foram comparados com aquele registrado para $[Na_6(H_2O)_{20}V_{10}O_{28} \cdot 4H_2O]_n$ (**NaV₁₀**) nas mesmas condições.

O espectro do produto **NaV₁₀** na solução a $1,0 \text{ mmol} \cdot L^{-1}$ é mostrado na FIGURA 27b e apresenta sinais com deslocamentos químicos em $\delta = -424$, -500 e -515 ppm, correspondentes aos três ambientes químicos diferentes para os centros de vanádio(V), respectivamente, **V_a**, **V_b** e **V_c** (FIGURA 27a) em $[V_{10}O_{28}]^{6-}$.¹⁵⁹ O perfil espectral está de acordo com o relatado para soluções aquosas deste oxoânion.^{75; 76}

Além dos sinais do V_{10} , estão presentes no espectro sinais atribuídos a $[H_2VO_4]^-$ (**V₁**), $[HV_2O_7]^{3-}$ (**V₂**) e $[V_4O_{12}]^-$ (**V₄**) em -560 , -573 e -578 ppm respectivamente, evidenciando a presença de diferentes vanadatos(V) em equilíbrio, típica de soluções de decavanadatos em $pH = 7$.^{75; 160}

O espectro da solução de **NaV₁₀** a $5,0 \text{ mmol} \cdot L^{-1}$ (FIGURA 27b) apresenta um aumento na intensidade relativa do sinal referente a **V₄** em relação a **V₁**, **V₂** e aos sinais do V_{10} , indicando um deslocamento do equilíbrio para a formação da espécie **V₄**, favorecida pelo aumento da concentração de vanádio no meio.⁷⁶

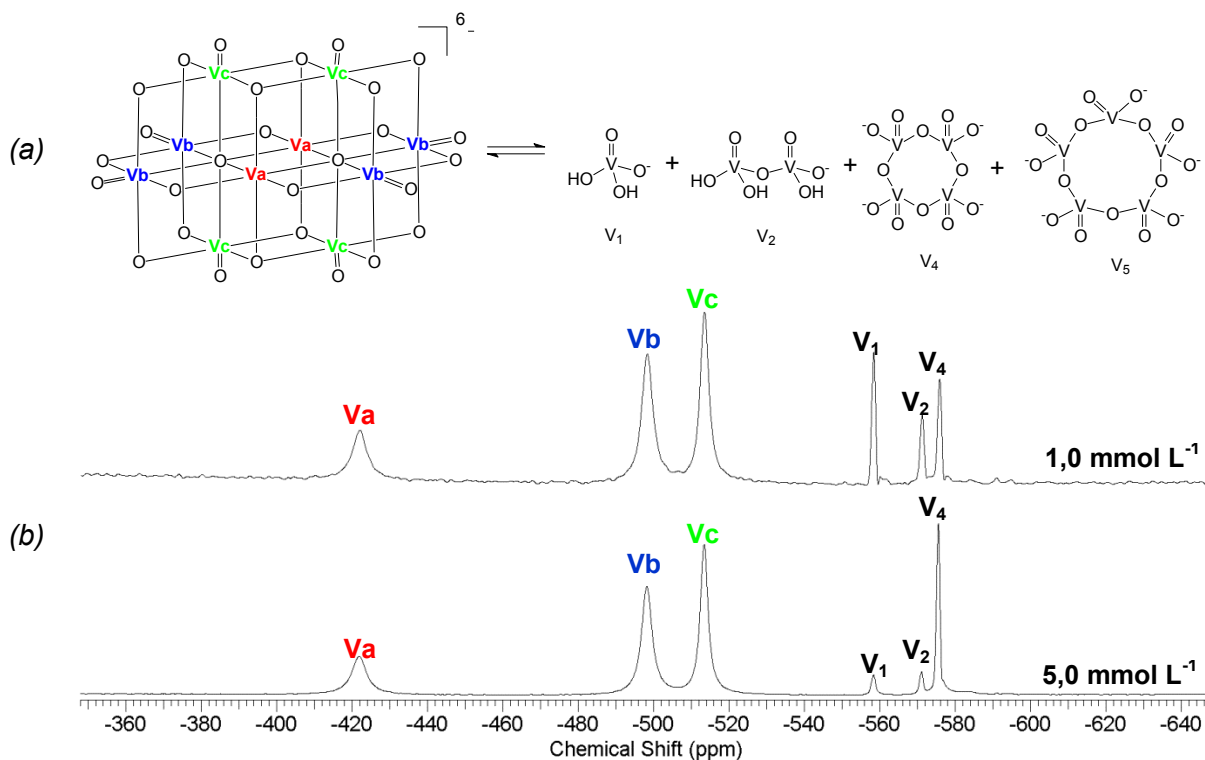


FIGURA 27. (a) Conversão do ânion decavanadato em diferentes oligômeros de V^V dependente do pH do meio. O decavanadato é representado explicitando-se os diferentes átomos de vanádio presentes na estrutura. (b) Espectros de RMN de ^{51}V de NaV_{10} a 1,0 e a 5,0 mmol L $^{-1}$, evidenciando o aumento da intensidade do sinal referente à espécie V_4 em relação a V_1 e V_2 devido ao aumento da concentração de vanádio em solução.

Os espectros de RMN de ^{51}V obtidos para $NicoV_{10}$ e $IsoV_{10}$ apresentam apenas os sinais característicos da espécie decavanadato: Va (red), Vb (blue) e Vc (green) em -425, -507 e -525 ppm (FIGURA 28), indicando que a estrutura do POV se mantém estável em solução aquosa. Os deslocamentos químicos de Vb (blue) e Vc (green) evidenciam que o decavanadato se encontra triplamente protonado na forma de $[H_3V_{10}O_{28}]^{3-}$. Os espectros de RMN de ^{51}V de $NicoV_{10}$ e $IsoV_{10}$ a 5,0 mmol L $^{-1}$ não apresentam diferenças em relação àquele registrado para as soluções a 1,0 mmol L $^{-1}$.

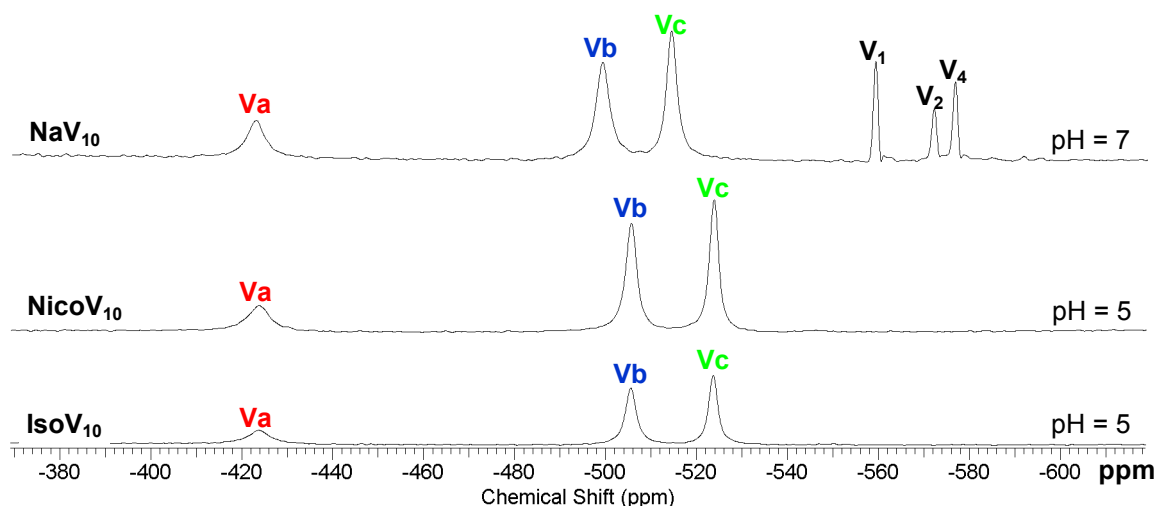


FIGURA 28. Espectros de RMN de ^{51}V (105,25 MHz) dos compostos **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** (1,0 mmol·L⁻¹) mostrando as atribuições de cada sinal observado. O pH das amostras de **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** foi igual a 5, enquanto o da amostra de **NaV₁₀** foi igual a 7.

O meio mais ácido resultante da solubilização de **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** pode não ser a única explicação para a maior estabilidade desses produtos em solução aquosa. É também possível que as interações supramoleculares observadas no estado sólido entre os componentes orgânicos e o ânion decavanadato permaneçam em solução, pelo menos parcialmente.⁸⁹ Assim, as forças eletrostáticas e as ligações de hidrogênio entre o V₁₀ e os cátions podem ser suficientemente fortes para evitar a quebra do ânion em espécies de menor nuclearidade.

5.2.2.2 Caracterização por ressonância paramagnética eletrônica (RPE)

Os compostos **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** foram analisados por RPE em solução aquosa a 1,0 mmol L⁻¹ e a 77 K. Como esperado, nenhum dos compostos apresentou linhas de ressonância referentes a espécies de vanádio(IV) (3d¹, $I = 7/2$), provenientes de uma possível redução do vanádio(V) pelas moléculas orgânicas (FIGURA 29). Isso é compatível com a natureza totalmente oxidada do poliânion.

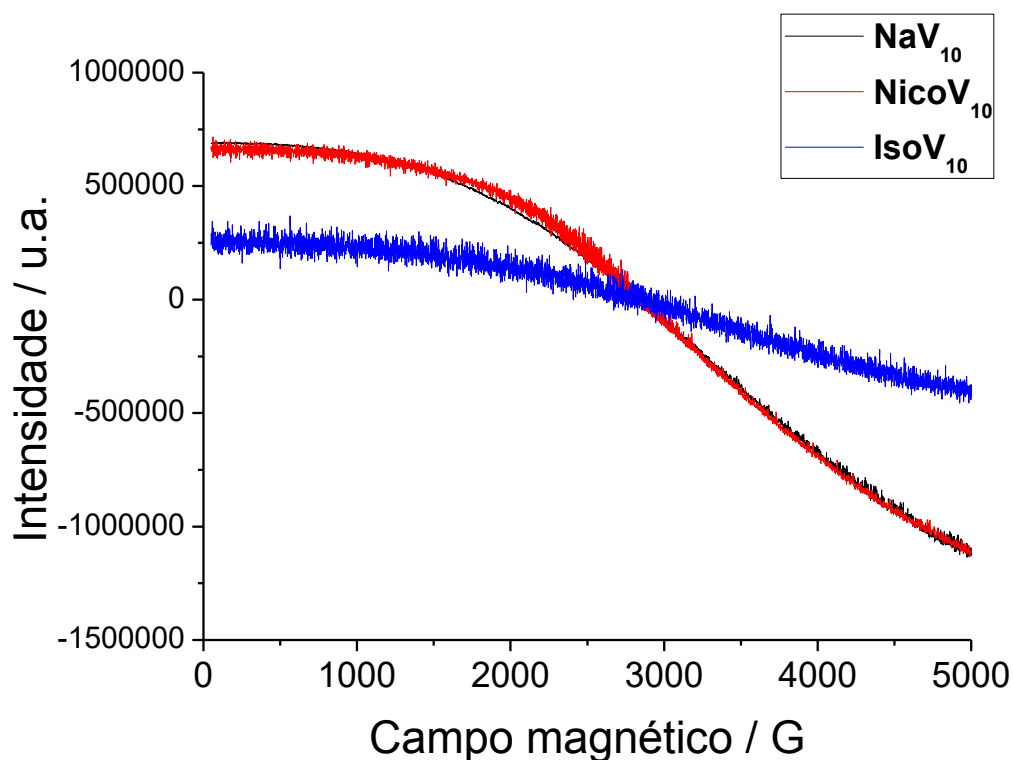


FIGURA 29. Espectros de RPE registrados em solução aquosa a 77K para os compostos **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**.

5.2.2.3 Caracterização por espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

Os compostos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** são alaranjados e foram analisados em solução aquosa por espectroscopia eletrônica na região de 250 a 800 nm. Os espectros registrados para os dois compostos são similares; resultados representativos para **NicoV₁₀** são apresentados na FIGURA 30.

Os espectros apresentam uma banda intensa com absorção máxima abaixo de 270 nm e outra banda de menor intensidade na região do visível, que se estende até 500 nm. Todas as bandas são atribuídas às transições de transferência de carga ligante-metal (TCLM) $p\pi(\text{O, oxo}) \rightarrow d(\text{V})$ e envolvem os diferentes tipos de vanádio presentes na estrutura do decavanadato (ver FIGURA 26a).¹⁶¹ A banda intensa em 270 nm é característica da transição TCLM $p\pi(\text{O, oxo}) \rightarrow d(\text{Vb, Vc})$.¹⁶¹

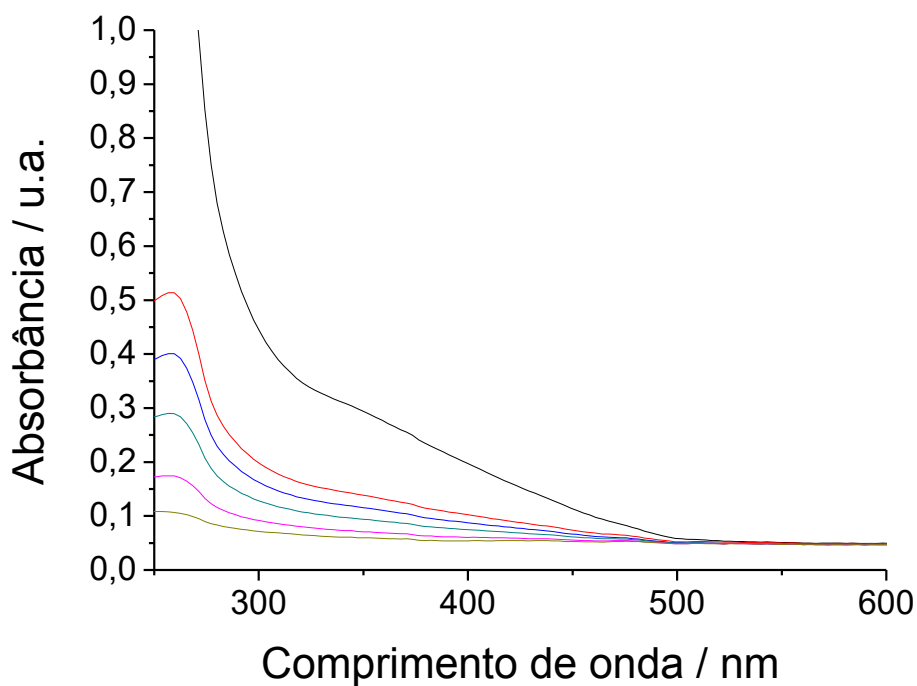


FIGURA 30. Espectros de absorção na região do UV-visível registrados para o produto **NicoV₁₀** nas concentrações de 0,250, 0,100, 0,075, 0,050, 0,025 e 0,010 mmol·L⁻¹ em água.

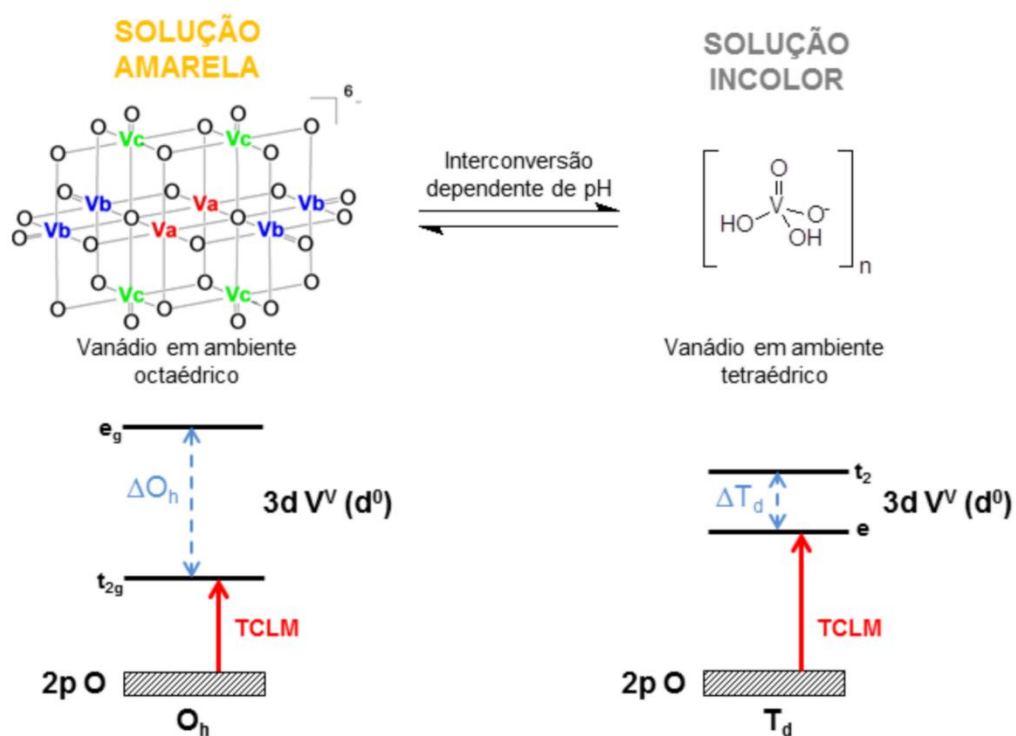


FIGURA 31. Mudança de ambiente de coordenação do vanádio no decavanadato em relação a vanadatos simples (exemplificados nesta figura pelo V₁). Essa mudança de ambiente provoca um abaixamento da energia da transição eletrônica de transferência de carga no V₁₀, causando o aparecimento de cor.

Dados da literatura mostram que vanadatos simples são incolores, enquanto o V_{10} e alguns polioxoânions mais complexos são alaranjados. Esta diferença de cor surge da mudança de geometria dos centros de vanádio de tetraédrica, em vanadatos simples, para aproximadamente octaédrica no decavanadato (FIGURA 31). A mudança na geometria diminui a energia da transição eletrônica $p\pi(O, \text{oxo}) \rightarrow d(V)$, causando um deslocamento batocrômico para a região do ultravioleta próximo-visível, promovendo o aparecimento da cor.¹⁶²

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS CONTENDO TRIS E PIRIDOXINA

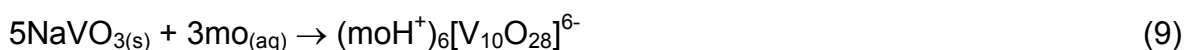
5.3.1 Sínteses

As reações para a obtenção do decavanadato com os ácidos conjugados do 2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol (“tris”) e do 4,5-bis(hidroximetil)-2-metilpiridin-3-ol (piridoxina, “pir”) como contraíons foram inicialmente realizadas em meio aquoso a partir da reação direta das moléculas orgânicas com o V_2O_5 , conforme proposto nas EQUAÇÕES (não balanceadas) 7 e 8.



As reações resultaram em soluções marrom-esverdeadas, das quais nenhum produto caracterizável foi isolado. A tentativa de conduzir a reação do “tris” com o V_2O_5 em refluxo novamente levou à formação de uma solução marrom-esverdeada, sugerindo a ocorrência de redução do vanádio(V) a vanádio(IV).

Diante das dificuldades apresentadas acima, optou-se por utilizar o $NaVO_3$ como material de partida de vanádio(V), empregando-se a metodologia apresentada no ESQUEMA 2 e resumida na EQUAÇÃO 9, também não balanceada.



Onde mo = molécula orgânica (“tris” ou piridoxina).

A reação com “tris” formou uma solução com a coloração desejada, da qual foram isolados cristais alaranjados (**TrisV₁₀**). No entanto, a reação com piridoxina sob refluxo por 24 h produziu cristais verdes (**PirV₂**). Os produtos foram caracterizados por técnicas espectroscópicas e por difratometria de raios X de monocristal.

5.3.2 Espectroscopia vibracional (IV e Raman)

Os espectros de absorção no infravermelho dos produtos **TrisV₁₀** e **PirV₂** apresentaram bandas compatíveis com a presença das moléculas orgânicas e com a formação de oxocompostos de vanádio (FIGURA 32). No entanto, como será discutido abaixo, a natureza química destes produtos é bastante distinta. A TABELA 11 resume as atribuições tentativas das absorções registradas em ambos os espectros.

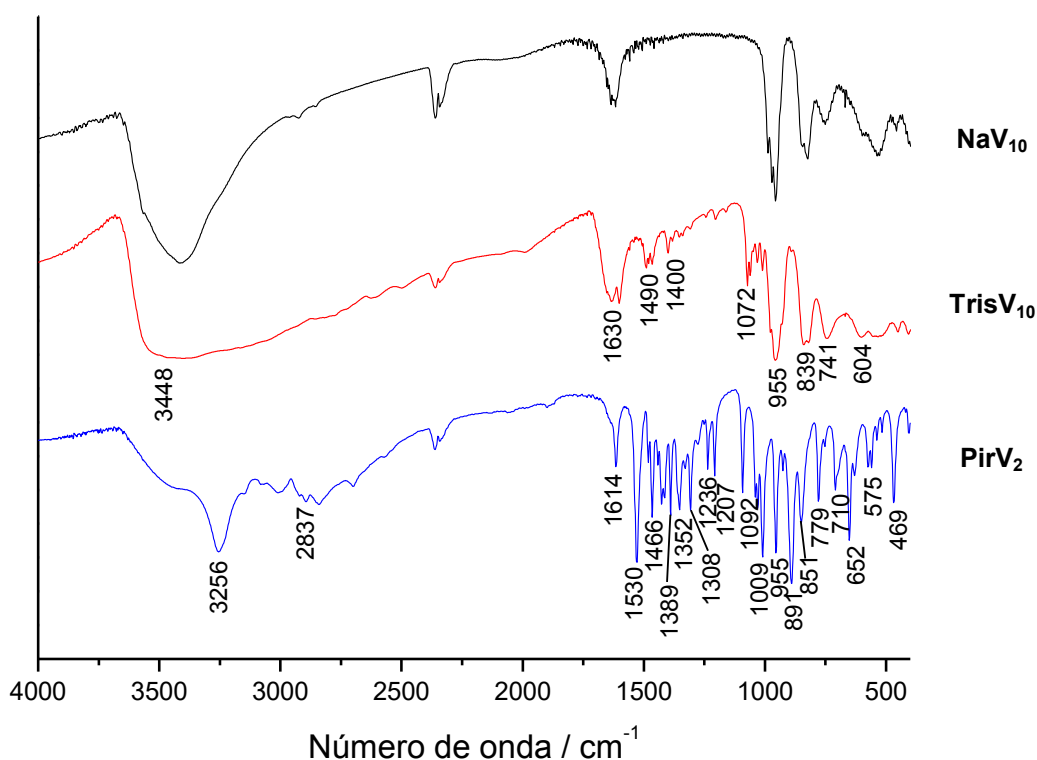


FIGURA 32. Espectros de absorção na região do infravermelho dos produtos **TrisV₁₀** e **PirV₂** em comparação a **NaV₁₀**, usado como referência do ânion V₁₀ sem cátions orgânicos, registrados em pastilha de KBr.

TABELA 11. ATRIBUIÇÃO TENTATIVA DAS BANDAS OBSERVADAS NOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PARA OS PRODUTOS **TrisV₁₀** E **PirV₂**.

Atribuição tentativa	NaV₁₀	TrisV₁₀	PirV₂
$\nu(\text{O-H})$	3421	3448	3256
$\nu(\text{C-H})$	-	-	2837
$\nu(\text{C-C})$	-	-	1614, 1530 e 1207, 1009 e 652
$\delta(\text{NH}_2)$	-	1630	-
$\delta(\text{C-O})$	-	-	1466 e 575
$\delta(\text{CH}_2)$	-	1490	1389, 1092, 955 e 891
$\delta(\text{O-H})$	-	1400	1308
$\nu(\text{C-N})$	-	-	1236
$\nu(\text{C-O})$	-	1072	1352 e 710
$\delta(\text{anel})$	-	-	779 e 489
$\nu(\text{V=O})$	955	955	955
$\nu_{\text{as}}(\text{V-O-V})$, $\nu_{\text{s}}(\text{V-O-V})$ e $\delta(\text{V-O-V})$	827, 752 e 536	839, 741 e 604	851, 779 e 575

ν = estiramento, ν_{as} = estiramento assimétrico, ν_{s} = estiramento simétrico, δ = deformação angular no plano.

FONTE: BOUGEARD, D. (2003),¹⁶³ ZHETCHEVA, V. D. K. (2010),¹⁶² YADAV, R.A. (2014),¹⁶⁴ SOARES, J. F. (2011)¹⁶⁵ e FROST, R. L. (2005).¹⁶⁶

O espectro do produto **TrisV₁₀** apresenta bandas características do decavanadato na região abaixo de 1000 cm^{-1} . O estiramento $\nu(\text{V=O})$ ocorre em 955 cm^{-1} e as vibrações $\nu_{\text{as}}(\text{V-O-V})$, $\nu_{\text{s}}(\text{V-O-V})$ e $\delta(\text{V-O-V})$ em 839, 741 e 604 cm^{-1} respectivamente. O perfil alargado da banda correspondente à vibração $\nu(\text{O-H})$ indica a ocorrência de ligações de hidrogênio, o que foi posteriormente confirmado pela análise por DRX de monocristal. Outras bandas típicas do “tris”, referentes a $\delta(\text{NH}_2)$, $\delta(\text{CH}_2)$, $\delta(\text{O-H})$ e $\nu(\text{C-O})$, estão presentes no espectro nas regiões de 1630, 1490, 1400 e 1072 cm^{-1} , respectivamente (FIGURA 32).

No espectro de **PirV₂** são observadas diversas bandas características da vibração dos anéis piridínicos dos ligantes piridoxina, tais como $\nu(\text{C-C})$ em 1614, 1530, 1207, 1009 e 652 cm^{-1} , $\nu(\text{C-N})$ em 1236 cm^{-1} e $\delta(\text{anel})$ em 779 e 489 cm^{-1} . As vibrações dos esqueletos carbônicos são vistas em 2837, 1427, 1389, 1092, 955 e 891 cm^{-1} (FIGURA 32).

Em **PirV₂** as bandas correspondentes às ligações entre vanádio e oxigênio não são alargadas como ocorre nos produtos contendo o ânion decavanadato. Uma banda intensa em 955 cm^{-1} , atribuída a $\nu(\text{V=O})$, se encontra dentro da faixa relatada na literatura (1029 a 840 cm^{-1}) para este modo vibracional.^{162; 165} A presença de bandas em 851, 779 e 575 cm^{-1} , referentes a $\nu_{\text{as}}(\text{V-O-V})$, $\nu_{\text{s}}(\text{V-O-V})$ e $\delta(\text{V-O-V})$ respectivamente, sugere uma natureza polinuclear para o produto. As bandas referentes a $\nu(\text{O-H})$ e $\delta(\text{O-H})$, em 3256 e 1308 cm^{-1} respectivamente, são bem

resolvidas, sugerindo que este produto não contém moléculas de água incorporadas ao retículo cristalino (FIGURA 32).

Devido à maior complexidade do padrão espectral, o produto **PirV₂** também foi analisado por espectroscopia Raman, que corrobora os dados de IV (FIGURA 33). As bandas relativas às vibrações dos anéis piridínicos estão presentes nas regiões de 1615, 1529 e 1043 cm⁻¹ (ν (C-C)), 1216 cm⁻¹ (ν (C-N)) e 705 e 565 cm⁻¹ (χ (anel)) em 779 e 489. As bandas relativas às cadeias carbônicas aparecem em 2969, 2925, 2854, 1452, 1388, 405 e 170 cm⁻¹, correspondendo às vibrações ν (C-H) e δ (C-H). Já as vibrações atribuídas às ligações entre vanádio e oxigênio – ν (V=O), ν_{as} (V-O-V), ν_s (V-O-V) e δ (V-O-V) – aparecem em 958, 884, 781 e 639 respectivamente.¹⁶⁴

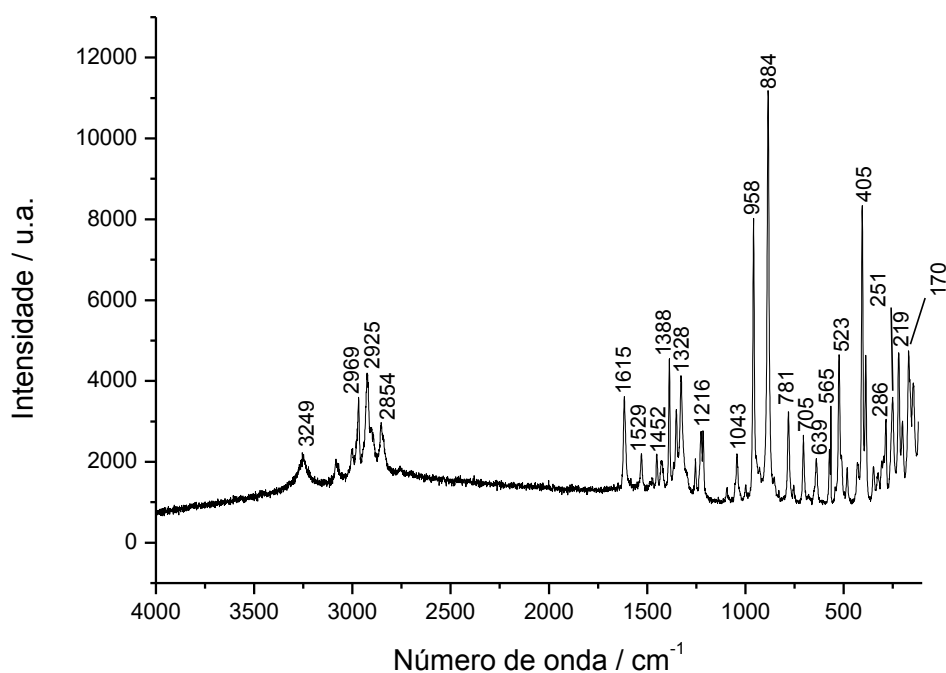


FIGURA 33. Espectro de espalhamento Raman registrado para o produto **PirV₂**.

5.3.3 Caracterização por difratometria de raios X de monocristal (DRX)

5.3.3.1 Análise de **TrisV₁₀**

A análise de **TrisV₁₀** por difratometria de raios X de monocristal revelou uma estrutura de formulação [(HOCH₂)₃CNH₃]₄[H₂V₁₀O₂₈]·10H₂O inédita na literatura. O

diagrama ORTEP representativo da estrutura do produto é apresentado na FIGURA 34. As TABELAS 12 e 13 contêm os principais dados cristalográficos e os comprimentos e ângulos de ligação selecionados para **TrisV₁₀**.

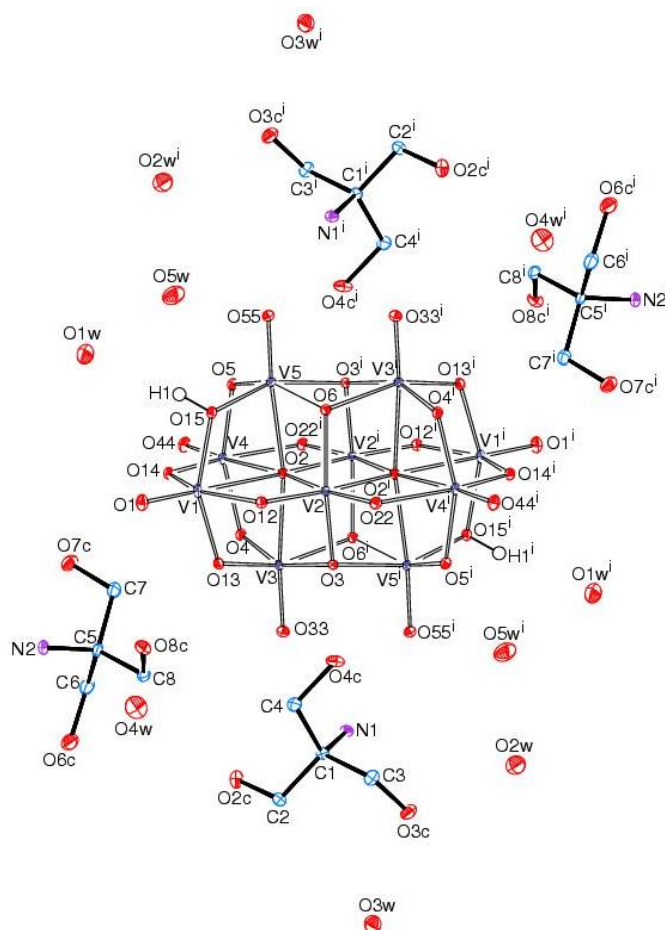


FIGURA 34. Diagrama ORTEP¹⁴⁵ de $[(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_3]_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (**TrisV₁₀**). Para maior clareza, os átomos de hidrogênio dos componentes orgânicos foram removidos da representação. As elipsóides são apresentadas com 50% de probabilidade.

A estrutura de **TrisV₁₀** é composta por um ânion decavanadato e quatro moléculas de tris protonadas. O retículo cristalino é preenchido por 10 moléculas de H₂O de cristalização (FIGURA 34). O decavanadato encontra-se protonado nos oxigênios em ponte dupla $\mu_2\text{-O}(15)$, com uma distância O-H igual a 0,82 Å. O comprimento da ligação V- $\mu_2\text{-OH}$ é, em média, 1,89 Å. Os comprimentos e ângulos de ligação no agregado estão de acordo com o relatado para os demais decavanadatos sintetizados neste trabalho e também com aqueles descritos na literatura.^{80; 136}

TABELA 12. DADOS CRISTALOGRAFICOS DE REFINAMENTO PARA
 $[(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_3]_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (**TrisV₁₀**)

Formula empírica	$\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}, 4[(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_3], 10(\text{H}_2\text{O})$
Massa molar/ $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	1628,16
Sistema cristalino, grupo espacial	Triclínico, P-1
a/ Å	10,4309(7)
b/ Å	11,0433(8)
c/ Å	13,5205(10)
$\alpha/^\circ$	76,258(3)
$\beta/^\circ$	71,873(3)
$\gamma/^\circ$	65,063(2)
Volume/ Å ³	1331,90(17)
Z	1
Densidade/ mg/m^3	2,030
F(000)	824
Coeficiente de absorção/ mm^{-1}	1,797
Dimensões do cristal/ mm	0,393 x 0,259 x 0,124
Faixa de coleta de dados (ângulo θ)/ °	3,028 a 27,5
Número de reflexões coletadas	60077
Número de reflexões independentes	6114 [R(int) = 0,0396]
Qualidade de ajuste no F^2	1,066
R (dados observados)	$R_1 = 0,0241$, $wR_2 = 0,0581$
R total	$R_1 = 0,0320$, $wR_2 = 0,0608$
Maior densidade eletrônica residual no mapa de diferença (pico e buraco)/ $\text{e}\cdot\text{Å}^{-3}$	0,430 e -0,327
Localização da densidade eletrônica residual	Próximo ao C(1)

$$w = [\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0,0268\text{P})^2 + 1,2693\text{P}]^{-1} \text{ onde } \text{P} = (\text{Fo}^2 + 2\text{Fc}^2)/3$$

TABELA 13. COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO (Å) E ÂNGULOS (°) SELECIONADOS PARA
 $[(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_3]_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (**TrisV₁₀**)

<i>Comprimentos de ligação (decavanadato)</i>		
Tipo de ligação	$[(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_3]_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (TrisV₁₀)	
V – μ_2 -OH	V(1) – O(15)	1,9144(12)
	V(5) – O(15)	1,8725(12)
	O(15) – H(15)	0,82(2)
V – μ_2 -O	V(1) – O(12)	2,0424(12)
	V(2) – O(22)	1,6909(12)
	V(3) – O(4)	1,8194(12)
	V(3) – O(13)	1,8266(12)
	V(4) – O(5)	1,9150(12)
	V(4) – O(14)	1,8389(12)
	V(4)#1 – O(22)	2,0326(12)
V – μ_3 -O	V(2) – O(6)	1,9175(12)
	V(3) – O(6)#1	2,0110(12)
	V(5) – O(6)	2,0141(12)
V – μ_6 -O	V(1) – O(2)	2,3428(12)
	V(2) – O(2)	2,0974(12)
	V(2)#1 – O(2)	2,1305(12)
	V(3) – O(2)	2,2420(11)
	V(4) – O(2)	2,3242(12)
	V(5) – O(2)	2,2208(11)
V – O _{terminal}	V(1) – O(1)	1,5919(12)
	V(3) – O(33)	1,6122(12)

Continua

Continuação da TABELA 13

<i>Comprimentos de ligação (componentes orgânicos)</i>		
"Tris"	N(1) – C(1)	1,495(2)
	C(1) – C(2)	1,524(2)
	C(2) – O(2C)	1,430(2)
<i>Ângulos (decavanadato)</i>		
Tipo de ângulo	[(HOCH ₂) ₃ CNH ₃] ₄ [H ₂ V ₁₀ O ₂₈] · 10H ₂ O (TrisV₁₀)	
V – (μ ₂ -OH) – V	V(5) – O(15) – V(1)	112,77(6)
	V(5) – O(15) – H(15)	111(4)
V – (μ ₂ -O) – V	V(3) – O(4) – V(4)	114,19(6)
	V(5) – O(5) – V(4)	115,11(6)
	V(2) – O(12) – V(1)	111,09(6)
V – (μ ₃ -O) – V	V(2) – O(6) – V(3)#1	107,42(5)
	V(2) – O(6) – V(5)	106,77(5)
	V(3)#1 – O(6) – V(5)	98,69(5)
V – (μ ₆ -O) – V	V(2) – O(2) – V(2)#1	102,27(5)
	V(2)#1 – O(2) – V(4)	87,22(4)
	V(2) – O(2) – V(1)	87,65(4)
	V(4) – O(2) – V(1)	82,84(4)
	V(5) – O(2) – V(3)	169,65(6)
<i>Ângulos (componentes orgânicos)</i>		
"Tris"	N(1) – C(1) – C(2)	107,61(14)
	C(1) – N(1) – H(1N1)	112,7(2)
	C(2) – O(2C) – H(2C)	109,2(2)
	H(1N1) – N(1) – H(2N1)	106(2)

Transformações de simetria usadas para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+1,-z+1

A estrutura cristalina do produto apresenta uma complexa rede tridimensional de ligações de hidrogênio envolvendo o ânion duplamente protonado, os cátions trisH⁺ e as moléculas de água de cristalização (FIGURA 35). As ligações em geral são do tipo O-H...O ou N-H...O e são bastante fortes, com distâncias entre o átomo doador e o aceptor variando entre 2,65 e 2,85 Å e ângulos entre 148 e 179°. Apenas uma ligação de hidrogênio fraca do tipo C-H...O ocorre na estrutura, de comprimento igual a 3,34 Å e ângulo de 157°.

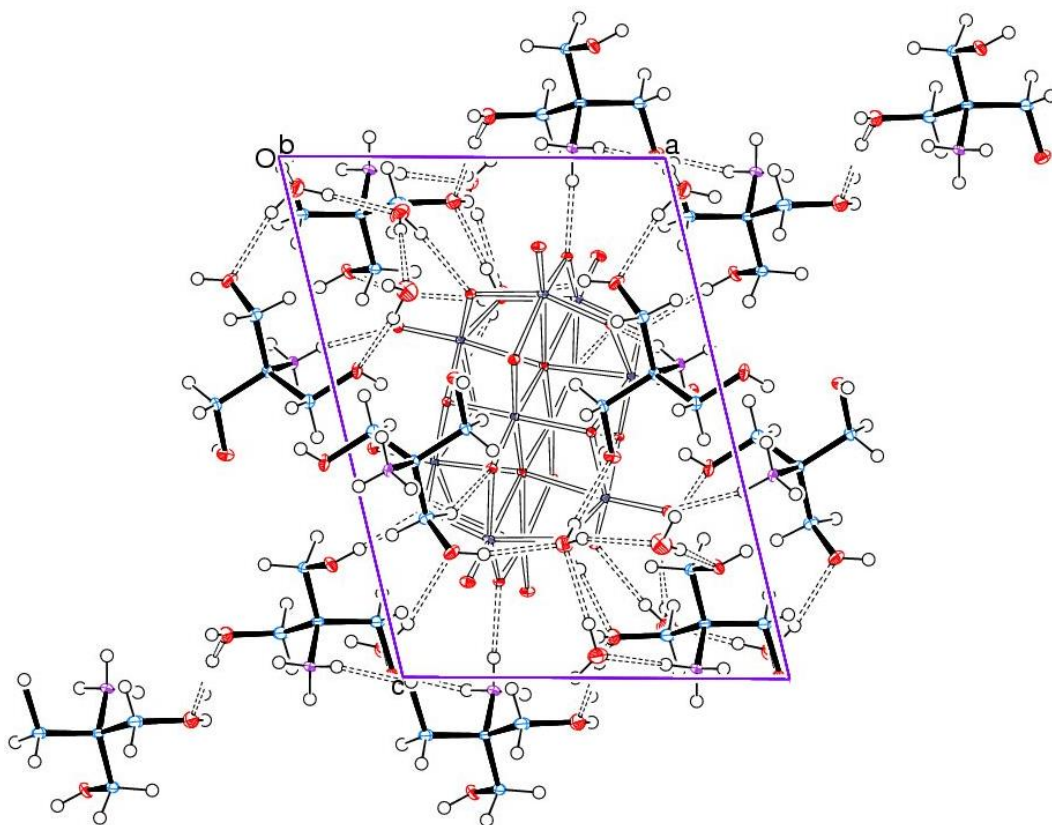


FIGURA 35. Empacotamento cristalino do produto **TrisV₁₀** ao longo do eixo b, mostrando as ligações de hidrogênio que ligam os ânions decavanadato com os cátions trisH⁺ e moléculas de água. As elipsoides são apresentadas com 50% de probabilidade.

5.3.3.2 Análise de **PirV₂**

A análise de **PirV₂** por difratometria de raios X de monocristal revelou uma estrutura diferente da obtida para os outros produtos. Trata-se de um complexo binuclear de vanádio(V) pentacoordenado em que a cada centro metálico estão ligados dois grupos oxo (V=O) terminais e uma piridoxina coordenada de forma bidentada através dos grupos 3-hidróxido e 4-hidroximetil. O diagrama ORTEP de **PirV₂** é apresentado na FIGURA 36, os principais dados cristalográficos estão na TABELA 14 e os ângulos e comprimentos de ligação selecionados são listados na TABELA 15.

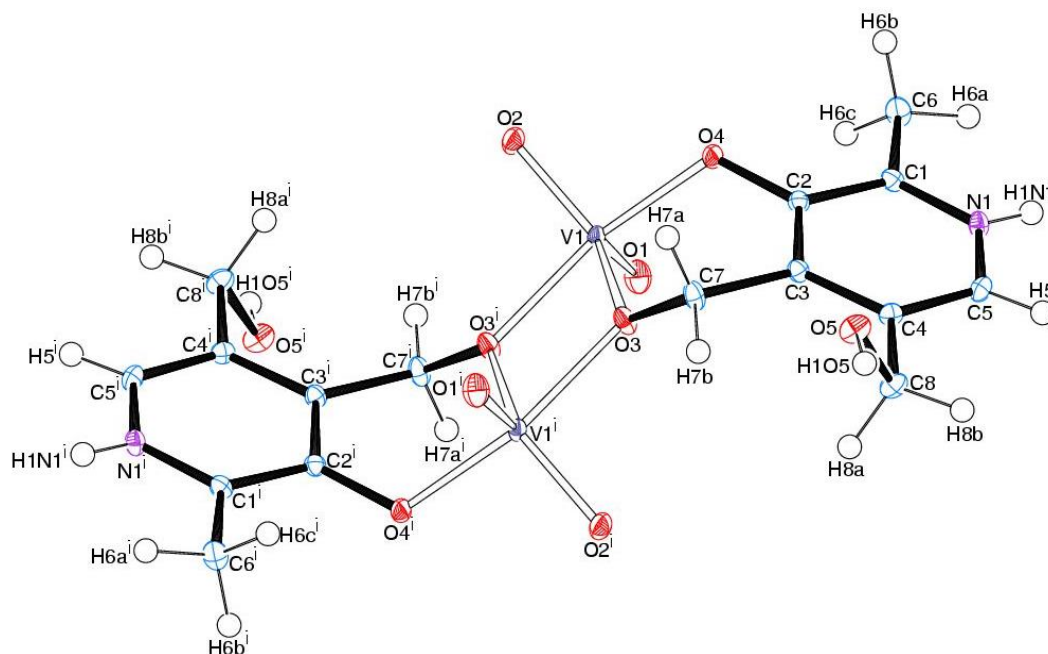


FIGURA 36. Diagrama ORTEP¹⁴⁵ da fórmula unitária de $[(VO_2)_2(\mu-C_8H_{10}NO_3)_2]$ (**PirV₂**). As elipsoides são apresentadas com 50% de probabilidade.

TABELA 14. DADOS CRISTALOGRAFICOS DE REFINAMENTO PARA **PirV₂**

	$[(VO_2)_2(\mu-C_8H_{10}NO_3)_2]$ (PirV₂)
Formula empírica	$C_{16}H_{20}N_2O_{10}V_2$
Massa molar/ $g \cdot mol^{-1}$	502,22
Sistema cristalino, grupo espacial	Triclínico, P-1
a/ Å	6,8719(4)
b/ Å	8,6381(5)
c/ Å	8,6481(5)
$\alpha/^\circ$	113,382(2)
$\beta/^\circ$	91,615(2)
$\gamma/^\circ$	102,239(2)
Volume/ Å ³	456,86(5)
Z	1
Densidade/ mg/m^3	1,825
F(000)	256
Coeficiente de absorção/ mm^{-1}	1,086
Dimensões do cristal/ mm	0,245 x 0,162 x 0,073
Faixa de coleta de dados (ângulo θ)/ °	3,057 a 30
Número de reflexões coletadas	32330
Número de reflexões independentes	2670 [R(int) = 0,0285]
Qualidade de ajuste no F^2	1,121
R (dados observados)	$R_1 = 0,0234$, $wR_2 = 0,0634$
R total	$R_1 = 0,0263$, $wR_2 = 0,0644$
Maior densidade eletrônica residual no mapa de diferença (pico e buraco)/ $e \cdot \text{\AA}^{-3}$	0,569 e -0,273
Localização da densidade eletrônica residual	Na ligação C1-C2
$w = [\sigma^2(F_o^2) + (0,0334 \cdot P)^2 + 0,248 \cdot P]^{-1}$ onde $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$	

TABELA 15. COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO (Å) E ÂNGULOS (°) SELECIONADOS PARA [(VO₂)₂μ₂-(C₈H₁₀NO₃)₂] (**PirV₂**)

<i>Comprimentos de ligação</i>		
Tipo de ligação	[(VO ₂) ₂ μ ₂ -(C ₈ H ₁₀ NO ₃) ₂] (PirV₂)	
V – O _{terminal}	V(1)-O(1)	1,6134(9)
	V(1)-O(2)	1,6548(9)
V – O _{fenóxico}	V(1)-O(4)	1,9299(9)
V – O _{alcóxico}	V(1)-O(3)	1,9922(9)
	V(1)-O(3)#1	1,9947(9)
C – O	O(3)-C(7)	1,4332(14)
	O(4)-C(2)	1,3243(14)
	O(5)-C(8)	1,4217(15)
C – C	C(4)-C(8)	1,5043(16)
	C(2)-C(3)	1,4053(16)
	C(3)-C(7)	1,5024(16)
C – N	C(1)-N(1)	1,3428(15)
<i>Ângulos</i>		
Tipo de ângulo	[(VO ₂) ₂ μ ₂ -(C ₈ H ₁₀ NO ₃) ₂] (PirV₂)	
O – V – O	O(4)-V(1)-O(3)#1	153,09(4)
	O(2)-V(1)-O(3)	129,06(4)
	O(1)-V(1)-O(3)	119,58(5)
	O(1)-V(1)-O(2)	110,07(5)
	O(1)-V(1)-O(4)	101,02(4)
	O(2)-V(1)-O(4)	98,35(4)
	O(4)-V(1)-O(3)	83,39(4)
C – O – V	C(7)-O(3)-V(1)	127,46(7)
C – C – C	C(2)-C(3)-C(7)	116,31(10)
N – C – C	N(1)-C(5)-C(4)	120,22(11)

Transformações de simetria usadas para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+2,-z+1

A geometria em torno dos centros de vanádio é a de uma bipirâmide trigonal distorcida, como indicado pelo ângulo O(4)-V(1)-O(3)#1, de 153,09°, e pelos ângulos O(2)-V(1)-O(3), O(1)-V(1)-O(3) e O(1)-V(1)-O(2) de 129,06°, 119,58° e 110,07° respectivamente; estes últimos determinam o plano equatorial para cada centro metálico. Em complexos similares relatados na literatura, o núcleo {V₂O₈} é caracterizado por assimetria das duas ligações V-μO.^{165; 167; 168} Em **PirV₂**, no entanto, essas ligações são bastante simétricas, com comprimentos de 1,995 e 1,992 Å.

Há somente duas ligações de hidrogênio na estrutura cristalina do produto. Elas são do tipo O-H...O e N-H...O e conectam um grupo oxo de uma vanadila a um nitrogênio piridínico protonado e ao grupamento álcool de uma molécula vizinha, este último não envolvido em coordenação ao vanádio (FIGURA 37). Essas ligações de hidrogênio formam a rede bidimensional da estrutura ao longo do eixo *a*.

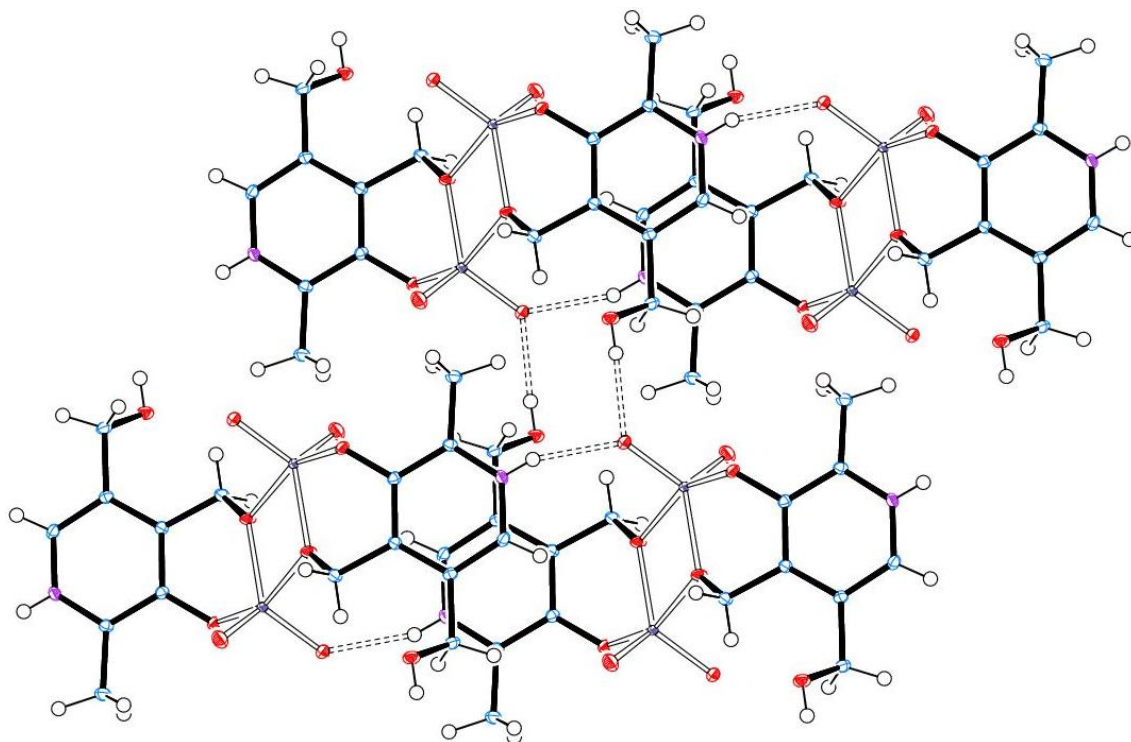


FIGURA 37. Empacotamento cristalino de **PirV₂**, evidenciando as ligações de hidrogênio entre as moléculas. As elipsóides são representadas com 50% de probabilidade.

A estrutura de raios X de $[(VO_2)_2(\mu-C_8H_{10}NO_3)_2]$ (**PirV₂**) já havia sido descrita na literatura.¹⁶⁹ Os cristais foram obtidos a partir de uma solução de sulfato de vanadila com piridoxina em meio aquoso.¹⁶⁹ No presente trabalho, o produto foi obtido em bom rendimento através de uma metodologia relativamente simples (seção 4.4.5), já partindo do vanádio no estado de oxidação +V ($NaVO_3$).

5.3.4 Análise elementar

O teor de vanádio de **PirV₂**, determinado por gravimetria e apresentado na TABELA 16, está de acordo com a estrutura do produto determinada por DRX de monocristal. Os teores de hidrogênio e nitrogênio também correspondem aos esperados para a formulação obtida. No entanto, a quantidade de carbono obtida pela microanálise difere em aproximadamente 2,5% do valor teórico. Essa diferença pode dever-se a uma dificuldade de queima da amostra durante a análise.

TABELA 16. RESULTADOS DE ANÁLISE ELEMENTAR PARA OS PRODUTOS **TrisV₁₀** E **PirV₂**

Produtos	Teores (% m/m)			
	V	C [#]	H [#]	N [#]
Obtido para TrisV₁₀	30,30	6,37	3,29	1,89
Calculado para C₁₆H₄₆N₄O₅₀V₁₀	31,30	11,80	4,33	3,44
Calculado para [Na₆(H₂O)₂₀][V₁₀O₂₈]·4H₂O	33,35	0	0	0
Obtido para PirV₂	20,00 [*]	35,81	3,90	5,30
Calculado para C₁₆H₂₀N₂O₁₀V₂	20,30	38,26	4,01	5,58

Teor determinados por titulometria. [#]Teores determinados por combustão. ^{}Teor determinado por gravimetria.

Para **TrisV₁₀**, por outro lado, as quantidades de vanádio calculada e obtida são bastante próximas entre si, o que nos levou a crer, inicialmente, que o produto se encontrava puro. No entanto, a análise de C, H e N realizada posteriormente, em duplicata, provou o contrário. Os teores obtidos experimentalmente são cerca da metade daqueles esperados para a formulação obtida por DRX de monocristal e sugerem uma contaminação com o decavanadato de sódio. Os dois compostos possuem solubilidade semelhante nos diversos solventes testados, o que dificultou a purificação de **TrisV₁₀**.

5.3.5 Caracterização por ressonância paramagnética eletrônica (RPE)

Os cristais de **PirV₂** apresentaram-se insolúveis em todos os solventes testados (água e solventes orgânicos polares e não polares). Dessa forma, o espectro de RPE do produto foi registrado no estado sólido à temperatura ambiente a partir dos cristais pulverizados (FIGURA 38). Os parâmetros de RPE obtidos através da simulação do espectro estão apresentados na TABELA 17.

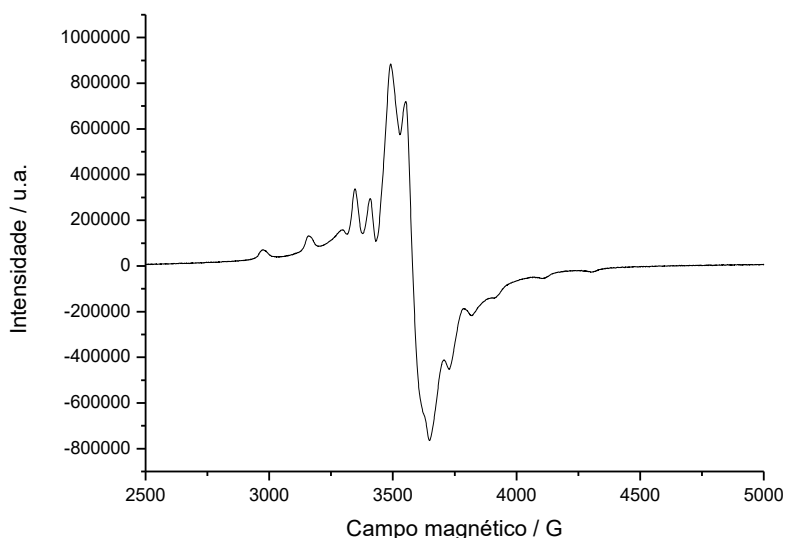


FIGURA 38. Espectro de RPE registrado em banda X para **PirV₂** pulverizado à temperatura ambiente. A linha preta representa o espectro obtido experimentalmente e a linha vermelha representa o espectro simulado.

TABELA 17. PARÂMETROS DE RPE OBTIDOS ATRAVÉS DA SIMULAÇÃO DO ESPECTRO DE **PirV₂**

Tensor g		Acoplamento hiperfino (MHz)	
g_z	g_{xy}	A_z	A_{xy}
1,9365	1,9771	515,00	187,98

O composto **PirV₂** é constituído por dois centros de vanádio(V), espécie diamagnética ($3d^0$), e, portanto, não deveria gerar espectro de RPE. O resultado obtido, portanto, provavelmente resulta de contaminação do produto com um composto de vanádio(IV). Os valores dos parâmetros g_z e g_{xy} são compatíveis com uma espécie mononuclear de vanádio(IV).¹⁷⁰

O meio reacional aparentemente promove uma reação paralela de redução dos centros de vanádio(V) do NaVO_3 , causando a oxidação da piridoxina. Esse produto de redução do vanádio contendo piridoxina oxidada ainda não pôde ser isolado e, portanto, permanece não identificado. Dentre os vários produtos de oxidação da piridoxina existentes principalmente em meio fisiológico (piridoxal, 4-piridoxo-lactona e ácido 4-piridóxico), aquele de presença mais provável no meio reacional é a forma aldeído, ou piridoxal, que é comumente obtida em reações catalisadas por íons metálicos como manganês(III)¹⁷¹ e rutênio(III).¹⁷²

Como já mencionado, as tentativas de síntese do decavanadato com “tris” a partir de V_2O_5 levaram a misturas de reação marrom-esverdeadas, e a análise

elementar de **TrisV₁₀** indicou a presença de impurezas. Mesmo assim o produto também foi caracterizado por RPE no estado sólido, com o intuito de averiguar se as impurezas poderiam envolver espécies de vanádio(IV). Além disso, observou-se que os cristais de **TrisV₁₀** adquiriram coloração esverdeada após longos períodos de armazenamento. Assim, espectros de RPE foram adquiridos para o produto ao longo de diversos períodos de estocagem à temperatura ambiente.

O produto recém-sintetizado (linha preta na FIGURA 39) praticamente não apresenta sinais de RPE, o que sugere a ausência de uma quantidade significativa de vanádio(IV). O espectro de um lote de **TrisV₁₀** após seis meses de estocagem, por sua vez, é representado pela linha em vermelho. Macroscopicamente, nenhuma mudança foi observada nos cristais, os quais continuavam com coloração alaranjada. No entanto, observa-se o registro de sinais de RPE indicativos da presença de elétrons desemparelhados, ou seja, de que espécies de vanádio(IV) ($3d^1$) tenham sido formadas no sólido ($g = 2,00$).¹⁷³

Após um ano, o produto encontrava-se visualmente diferente dos demais lotes analisados, apresentando cor verde e aspecto úmido. A linha azul na FIGURA 39 corresponde ao espectro de um produto **TrisV₁₀** estocado por um ano. Este espectro de RPE apresentou uma linha alargada com $g = 1,96$ e $\Delta_{pp} = 12,2$ mT, o que sugere a presença de espécies polinucleares de vanádio(IV) ou de valência mista no sólido.¹⁷⁴

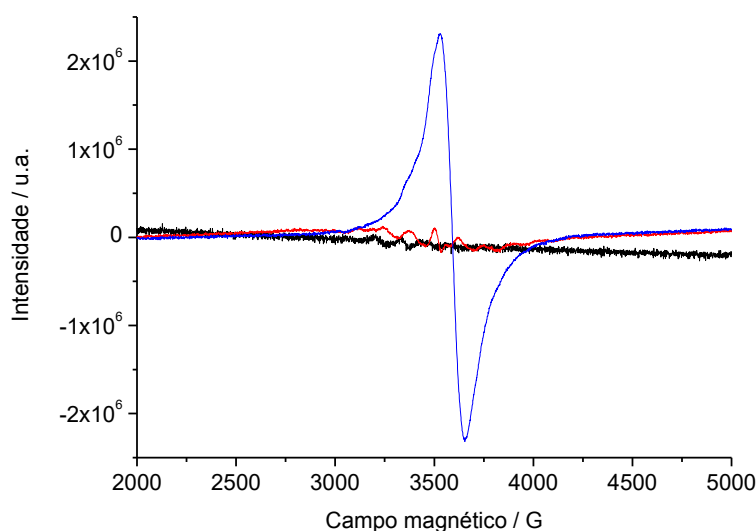


FIGURA 39. Espectros de RPE de **TrisV₁₀** registrados com o produto pulverizado à temperatura ambiente em vários estágios de decomposição: preto = lote recém-sintetizado; vermelho = lote estocado por seis meses; azul = lote estocado por um ano.

O vanádio tem uma química redox bastante rica e o processo de redução de vanádio(V) a vanádio(IV) é favorecido em meio biológico por moléculas orgânicas como ácido tartárico, glutatona e sacarídeos.^{175; 176; 177} Além disso, o vanádio é um potente catalisador da oxidação de álcoois a aldeídos e cetonas.^{178; 179} Não é, portanto, surpreendente que o “tris” e a piridoxina, dois poliálcoois, também possam ser oxidados na presença do vanádio(V) no meio reacional, com a consequente redução do metal a vanádio(IV).

5.3.6 Considerações sobre os sistemas de **TrisV₁₀** e **PirV₂**

As tentativas de síntese de decavanadatos empregando “tris” e piridoxina protonados como contraíons mostraram-se bastante complicadas devido à cristalização de produtos secundários e à redução do vanádio provocada pelos poliálcoois. Apesar das dificuldades encontradas, $[(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_3]_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (**TrisV₁₀**) e $[(\text{VO}_2)_2(\mu\text{-C}_8\text{H}_{10}\text{NO}_3)_2]$ (**PirV₂**) puderam ser isolados e parcialmente caracterizados. Esses sistemas ainda se encontram em fase de racionalização e ainda serão feitas tentativas de purificação de **TrisV₁₀** e de melhoria do rendimento de **PirV₂**. Dada a sua boa solubilidade em água, **TrisV₁₀** poderá ser futuramente empregado em ensaios biológicos similares aos que serão descritos nas próximas seções. Já **PirV₂** não foi solúvel em nenhum dos solventes testados, polares e não polares, e poderá ser empregado posteriormente em outros estudos no estado sólido.

5.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS DECAVANADATOS **NicoV₁₀** E **IsoV₁₀** SOBRE CULTURAS DE *E. coli*

Para os estudos do efeito dos decavanadatos sobre culturas bacterianas foram selecionados apenas os compostos obtidos em alto grau de pureza e que apresentaram boa solubilidade em meio aquoso. Os experimentos foram realizados adicionando-se soluções de $(1,3\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (**NicoV₁₀**) e $(1,4\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (**IsoV₁₀**) a culturas de *Escherichia coli* DH5α em duas etapas distintas:

- i. Ensaio de inibição do crescimento das culturas bacterianas avaliado por turbidimetria;
- ii. A partir dos resultados da etapa i, foram selecionadas algumas condições de cultivo bacteriano para avaliar o efeito dos compostos por citometria de fluxo. A técnica permitiu verificar a permeabilidade da membrana plasmática, variações do potencial de membrana e determinar os níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO).

5.4.1 Ensaio de inibição do crescimento das culturas de *E. coli*

As bactérias foram pré-incubadas com concentrações crescentes dos compostos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** (0,025 a 10,0 mol L⁻¹) por 15 min em água, e depois transferidas para o meio LB (concentrações finais baseadas nas fórmulas moleculares de cada produto de 0,04 a 1,67 mmol L⁻¹). O crescimento das culturas foi avaliado por leitura turbidimétrica a 600 nm (DO₆₀₀) após 2,5 h de incubação no *shaker*. O comprimento de onda selecionado visa minimizar a interferência da coloração dos compostos na medida (ver discussão na seção 5.2.2.3). Curvas de citotoxicidade de referência foram realizadas com soluções de ampicilina, $[\{\text{Na}_6(\text{H}_2\text{O})_{20}\text{V}_{10}\text{O}_{28}\cdot 4\text{H}_2\text{O}\}_n]$ (**NaV₁₀**), nicotinamida e isonicotinamida, nas mesmas concentrações empregadas nos ensaios com **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**. Os valores relatados correspondem às concentrações empregadas na etapa de pré-tratamento (seção 4.5.2.1) e não às concentrações finais, porque a literatura descreve que a oxidação de resíduos de cisteína pelo decavanadato, causando a inibição de certas proteínas, é irreversível.^{87; 88}

Os ensaios realizados somente com soluções das moléculas orgânicas nas concentrações de 1,0 e 10,0 mmol L⁻¹ não resultaram em inibição do crescimento das culturas de *E. coli* (FIGURA 40), evidenciando que estes compostos não são tóxicos para as bactérias quando comparados com o controle preparado com solução salina a 0,9%.

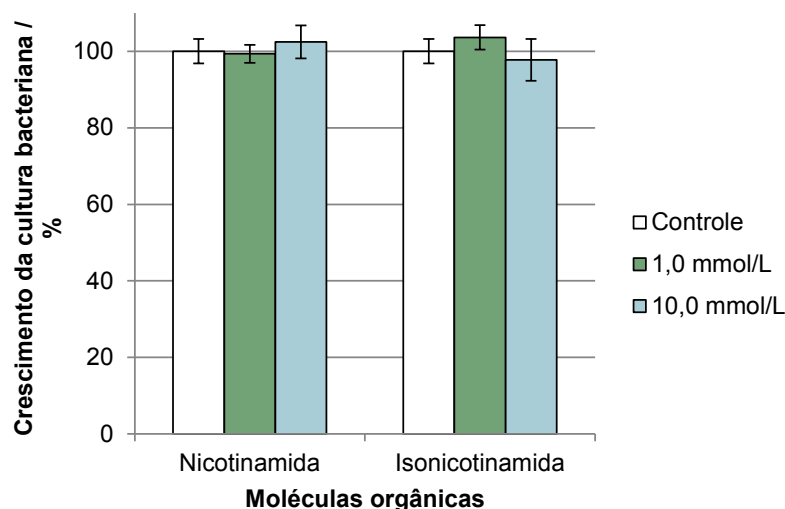


FIGURA 40. Resultado do tratamento das culturas de *E. coli* com nicotinamida e isonicotinamida a 1,0 e 10,0 mmol L⁻¹. O valor de $0,994 \pm 0,032$ foi tomado como 100% de crescimento das culturas para este ensaio. Uma suspensão das bactérias em solução salina a 0,9% foi empregada para a preparação da cultura controle, conforme descrito na seção 4.5.2.1.

O tratamento das culturas com **NaV₁₀** só resultou em inibição significativa do crescimento na maior concentração avaliada, com uma GI₅₀ de aproximadamente 11,0 mmol L⁻¹ (FIGURA 41). A atividade moderada a fraca foi compatível com dados de concentração mínima inibitória (MIC) relatados para este ânion em culturas de *E. coli* e *Staphylococcus aureus*.¹² Quando comparado ao antibiótico usado como referência, o **NaV₁₀** mostrou uma potência 18 vezes menor do que a ampicilina (GI₅₀ de 0,6 mmol L⁻¹), o que corrobora os resultados relatados para a norfloxacin¹⁰ e a ampicilina,⁹ obtidos por outras metodologias.

Em um trabalho recentemente realizado pela mestra Kahoana Postal no nosso grupo de pesquisa, a toxicidade de (NH₄)₇[H₆V₁₄O₃₈(PO₄)]·9H₂O ("V₁₄") frente à mesma estirpe de bactéria foi observada na concentração de 10,0 mmol L⁻¹.¹⁸⁰ O uso da técnica de ⁵¹V RMN permitiu caracterizar a quebra da estrutura polinuclear do V₁₄, gerando, após rearranjo dos centros de vanádio em solução, o decavanadato. Dentre outros fatores, a formação deste polioxoânion foi associada à toxicidade do POV nesta concentração.

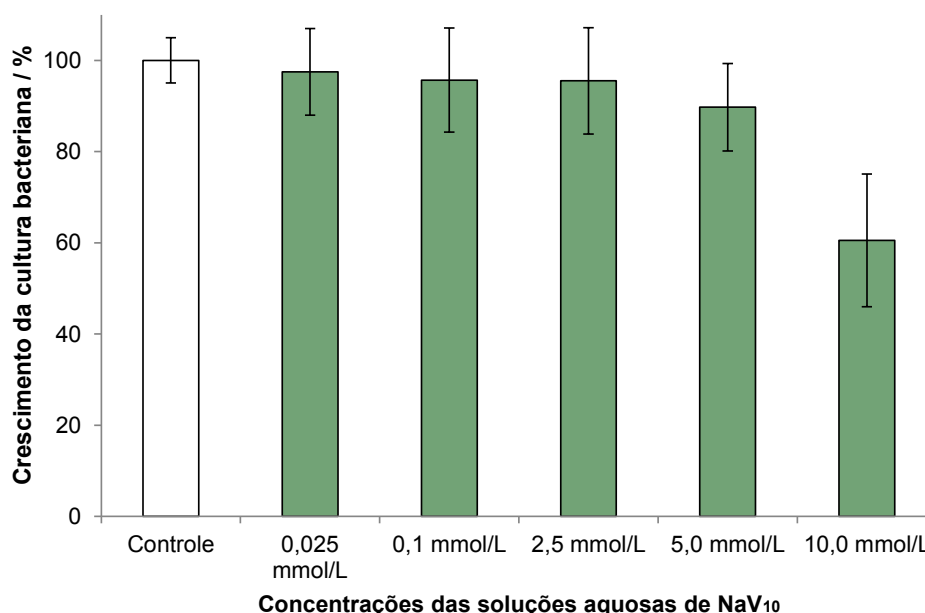


FIGURA 41. Avaliação da inibição do crescimento bacteriano provocada por $[\{\text{Na}_6(\text{H}_2\text{O})_{20}\text{V}_{10}\text{O}_{28} \cdot 4\text{H}_2\text{O}\}_n]$ (**NaV₁₀**). O valor de DO_{600} de $1,092 \pm 0,050$ foi tomado como 100% para o tratamento. As concentrações finais do composto no meio de cultura foram de 0,004, 0,017, 0,42, 0,83 e $1,67 \text{ mmol L}^{-1}$.

O ensaio comparativo entre as toxicidades de **IsoV₁₀**, **NicoV₁₀** e **NaV₁₀** sobre as culturas de *E. coli* foi realizado com concentrações crescentes dos polioxovanadatos, com base na fórmula molecular de cada composto. Este experimento evidenciou diferenças na toxicidade de **NaV₁₀** em comparação com os compostos **IsoV₁₀** e **NicoV₁₀** (FIGURA 42).

Os compostos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** apresentaram um efeito inibitório do crescimento bacteriano dependente da concentração. Os valores de GI_{50} obtidos para **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**, iguais a 2,8 e $4,0 \text{ mmol L}^{-1}$ respectivamente, são menores do que os determinados para **NaV₁₀**. Em comparação com a ampicilina, pode-se quantificar o efeito citotóxico (GI_{50} do POV / GI_{50} da ampicilina) na ordem **NicoV₁₀** (5) > **IsoV₁₀** (7) > **NaV₁₀** (18). Esses resultados mostram que, embora os compostos avaliados não sejam mais potentes do que o antibiótico de referência, a combinação do ânion decavanadato com as moléculas orgânicas, na sua forma neutra ou protonada, realmente potencializa os efeitos deletérios do ânion sobre as bactérias.

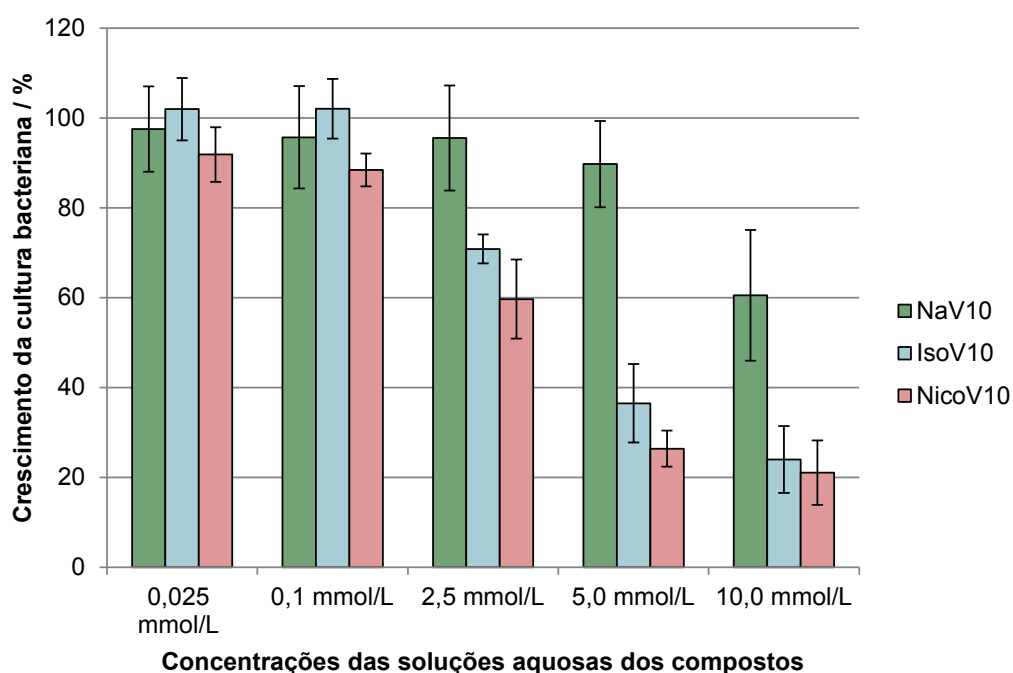


FIGURA 42. Avaliação da inibição do crescimento bacteriano provocada por $[\{\text{Na}_6(\text{H}_2\text{O})_{20}\text{V}_{10}\text{O}_{28} \cdot 4\text{H}_2\text{O}\}_n]$ (**NaV₁₀**), $(1,3\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (**NicoV₁₀**) e $(1,4\text{-C}_6\text{H}_7\text{N}_2\text{O})_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ (**IsoV₁₀**). Valores de DO_{600} de $1,092 \pm 0,050$, $1,107 \pm 0,024$ e $1,077 \pm 0,030$ foram tomados como 100% para os respectivos tratamentos (dados não mostrados). A concentração final dos compostos no meio de cultura foi de 0,004, 0,017, 0,42, 0,83 e 1,67 mmol L⁻¹. Os ensaios foram feitos no mínimo em triplicata.

Poucos sistemas híbridos orgânico/inorgânicos têm sido avaliados em sua ação antibacteriana. O sistema com melhor resultado corresponde a membranas de quitosana/V₁₀, apresentando uma atividade de inibição do crescimento de colônias de *E. coli* e *S. aureus* quatro vezes maior do que a do decavanadato com amônio.¹² Nesse trabalho a ação foi atribuída à combinação dos efeitos tóxicos do decavanadato e da quitosana.

Outros compostos contendo o decavanadato com cátions orgânicos (4-picolínio,¹⁰ 4-metoxibenzilamônio⁹ e *terc*-butilamônio¹⁰⁷) só apresentaram atividade inibitória (moderada) contra as bactérias *Gram*-positivas *Bacillus cirroflagellosus*, *Enterococcus faecium* e *Streptococcus pneumoniae*, respectivamente. O $[4\text{-picH}]_4[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ foi avaliado também em culturas de *Pseudomonas aeruginosa* (uma bactéria *Gram*-negativa), não demonstrando nenhuma atividade. Assim, esta é a primeira vez em que dois decavanadatos associados a moléculas orgânicas não tóxicas frente a *E. coli* (isonicotinamida e nicotinamida) mostram-se ativos contra uma bactéria *Gram*-negativa. Os efeitos tóxicos foram 3 ou 4 vezes maiores em relação ao decavanadato de sódio.

Uma das possíveis causas deste aumento de toxicidade dos compostos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** poderia ser a variação do pH do meio de cultura (de 5,7 para 4,7) quando altas concentrações dos polioxovanadatos foram adicionadas. Para averiguar o efeito dessa maior acidez do meio, realizou-se um ensaio tratando a cultura bacteriana com água que teve o seu pH ajustado para 4,8 com HCl diluído.

O gráfico da FIGURA 43 mostra que o meio ácido não causou redução significativa do crescimento das culturas, e provavelmente também não interferiu significativamente nos ensaios descritos na FIGURA 42. Na realidade, somente a acidez do meio provavelmente não justificaria os resultados de citotoxicidade observados, pois a bactéria *E. coli* é bastante resistente a variações das condições do meio de cultura e cresce em uma ampla faixa de pH, que vai de 4,4 a 9,0.^{181; 182;}

183

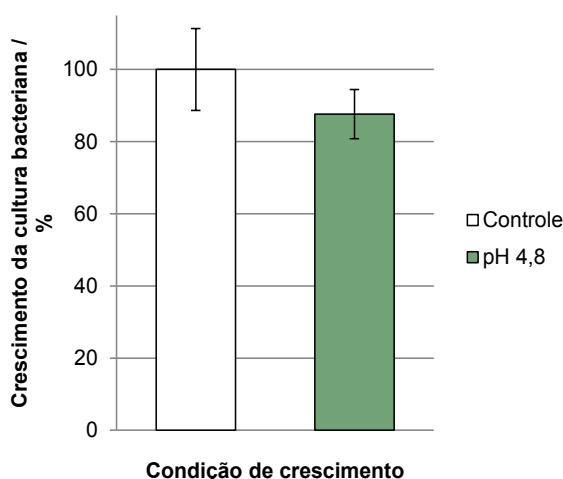


FIGURA 43. Resultado do abaixamento de pH sobre o crescimento de culturas de *E. coli*. Neste experimento, água com pH ajustado para 4,8 foi adicionada à cultura. O valor de $0,915 \pm 0,113$ foi tomado como 100% de crescimento para este ensaio.

Aparentemente o efeito citotóxico aumentado advém da combinação de componentes moleculares que isoladamente demonstraram atividade fraca ou nula. Acredita-se que forças supramoleculares fracas entre o cátion e o ânion auxiliem na interação deste último com interfaces carregadas negativamente, como é o caso da membrana plasmática de células eucarióticas e procarióticas.⁸⁹ O estudo realizado por Crans e colaboradores sobre a interação do decavanadato associado ao cátion metformínio com micelas reversas de AOT (modelo de membrana celular) sugere que o metformínio promova a interação do V₁₀ com as micelas (FIGURA 14) através da reorganização das moléculas de água próximas à superfície micelar. No meio biológico, isso poderia facilitar a permeação do polioxoânion pela membrana

celular.⁷⁹ Por analogia, no presente trabalho os cátions nicotinamídio e isonicotinamídio poderiam, em princípio, facilitar a interação do decavanadato com a membrana bacteriana, provocando o aumento do efeito citotóxico observado em relação a **NaV₁₀**.

Nos produtos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** ocorreu a cocristalização do decavanadato com a nicotinamida e a isonicotinamida, tanto na sua forma neutra quanto protonada. No entanto, ainda não se sabe de que forma as interações supramoleculares existentes no estado sólido são alteradas em solução, e se estas poderiam estar contribuindo para o efeito observado. Em farmacotécnica, a cocristalização é um conceito relativamente novo que visa à melhoria de propriedades físicas e químicas de um princípio ativo, tais como solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade, mediante associação de um composto iônico com moléculas orgânicas neutras,^{150; 184} ou entre moléculas neutras. Neste contexto, embora os resultados obtidos no presente trabalho (com **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**) em culturas de *E. coli* sejam claramente distintos dos gerados por **NaV₁₀**, a racionalização desses resultados ainda depende de estudos complementares sobre a forma de associação dos componentes destes sais no meio de cultura e com as células bacterianas.

5.4.2 Estudo do efeito dos decavanadatos sobre as culturas de *E. coli* por citometria de fluxo

Os ensaios de inibição do crescimento através do método turbidimétrico permitiram avaliar a resposta global das bactérias a cada um dos polioxovanadatos empregados. No entanto, uma cultura bacteriana é constituída de subpopulações heterogêneas que respondem diferentemente ao meio ambiente a que estão submetidas.¹⁸⁵ Buscando ampliar o entendimento da resposta destas subpopulações de bactérias a diferentes agentes físicos e químicos, estudos atuais tendem a realizar ensaios que permitam uma análise célula a célula, como, por exemplo, por meio da técnica de citometria de fluxo, que analisa individualmente cerca de 5.000 partículas por segundo.¹⁸⁶

A citometria de fluxo utiliza-se de diferentes sondas fluorescentes (fluorocromos) que permitem quantificar subpopulações em estados metabólicos e

fisiológicos distintos e fornecem uma relação entre elas. Através desta técnica, a viabilidade celular é avaliada a partir de critérios como a impermeabilidade ou integridade da membrana plasmática a fluorocromos, a manutenção do potencial de membrana e a presença de certos metabólitos ativos, medidos pela produção de metabólitos fluorescentes a partir de um precursor não fluorescente.^{187; 188; 189; 190}

Recentemente a ação antitumoral de polioxometalatos tem sido avaliada por citometria de fluxo aliada a outras técnicas.^{191; 192} Em estudos com o ânion decavanadato, a técnica foi usada para investigar a apoptose de células de câncer de ovário e fígado humanos tratadas com $\text{Na}_4\text{CoV}_{10}\text{O}_{28}\cdot 18\text{H}_2\text{O}$.¹⁹³ O estudo envolvendo bactérias é inédito para este ânion e pode auxiliar na elucidação das causas dos diferentes resultados obtidos com **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** nos ensaios de inibição do crescimento.

5.4.2.1 Avaliação do potencial de membrana ($\Delta\Psi$) por citometria de fluxo

Em organismos aeróbios, o consumo de oxigênio está acoplado à produção de ATP através da fosforilação oxidativa.^{194; 195} Em células procarióticas, devido à ausência de uma organela especializada, esse processo acontece na membrana plasmática. Durante a fosforilação oxidativa ocorre o transporte de elétrons através das enzimas da cadeia respiratória. A energia derivada desse processo é responsável pelo bombeamento de prótons para o exterior da célula, gerando um gradiente de potencial elétrico (potencial de membrana, $\Delta\Psi$, entre -100 e -200 mV) com seu lado interior negativo.¹⁹⁶

O desacoplamento do potencial de membrana ocorre quando alguma substância interage com a membrana e interfere no processo respiratório da célula por torná-la permeável a prótons e outros cátions pequenos, como K^+ , fazendo com que a diferença de potencial fique menos negativa e prejudicando a produção de energia (síntese de ATP).^{194; 195}

O decavanadato pode ter efeito sobre a membrana celular de diversas formas: por meio de interação com proteínas de membrana,^{61; 107} com os lipídios que compõem a bicamada fosfolipídica² ou com as moléculas de água próximas à superfície da membrana.^{79; 197} No primeiro caso, a interação mais conhecida envolve as quatro conformações possíveis da Ca^{2+} -ATPase, sobre a qual o V_{10} age por

oxidação de resíduos de cisteína presentes na porção citoplasmática da proteína.^{30;}
61; 198 De forma semelhante, ele pode agir sobre outras ATPases e desequilibrar o balanço iônico na célula, levando à perda do potencial de membrana.¹⁰⁷

Com o objetivo de verificar se os polioxovanadatos **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** causam perda do potencial de membrana, foram realizados ensaios utilizando a sonda lipofílica e catiônica JC-1, capaz de permear a membrana plasmática. Quando a membrana encontra-se devidamente polarizada, a sonda JC-1 forma agregados no interior da célula, fluorecendo no vermelho (590 nm). Quando a membrana está despolarizada, a sonda permanece na forma monomérica, fluorecendo no verde (527 nm) (FIGURA 44). A relação entre a intensidade de fluorescência no vermelho sobre aquela no verde, quando a amostra é excitada a 488 nm, é usada para detectar as mudanças do potencial de membrana $\Delta\Psi$.^{190; 199}

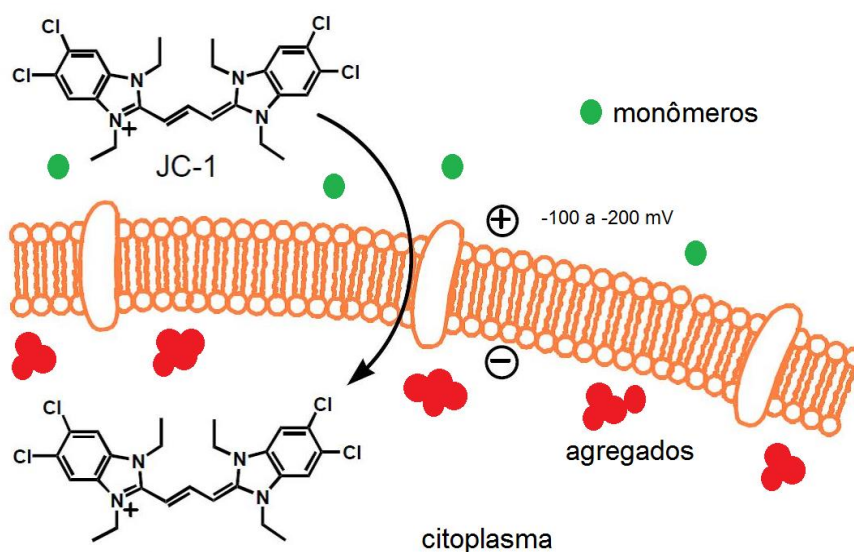


FIGURA 44. Princípio de funcionamento da sonda JC-1 junto à membrana de uma célula sadia. Em condição de acoplamento da membrana plasmática, as moléculas da sonda JC-1 encontram-se agregadas, emitindo fluorescência na região do vermelho (cerca de 590 nm); quando há perda do potencial de membrana, a sonda permanece em sua forma monomérica, a qual emite fluorescência na região do verde (cerca de 527 nm).

FONTE: Adaptado de DUBIKOVSKAYA, E. (2017).²⁰⁰

Para a leitura no citômetro neste ensaio, ambos os detectores FL1 (verde) e FL2 (vermelho) são utilizados e os dados são expressos pela razão entre as fluorescências medidas (FL2/FL1). A razão de 1,57 observada para a cultura controle, tratada somente com solução salina, evidencia a manutenção de $\Delta\Psi$ (FIGURA 45). A drástica diminuição dessa razão para as células tratadas com 5,0 mmol L⁻¹ de **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** (valores de 0,45, 0,40 e 0,35,

respectivamente) sugeriu um grande aumento da concentração de monômeros de JC-1, indicando que ocorreu despolarização, ou seja, um abaixamento no potencial de membrana das células bacterianas em todos os casos.

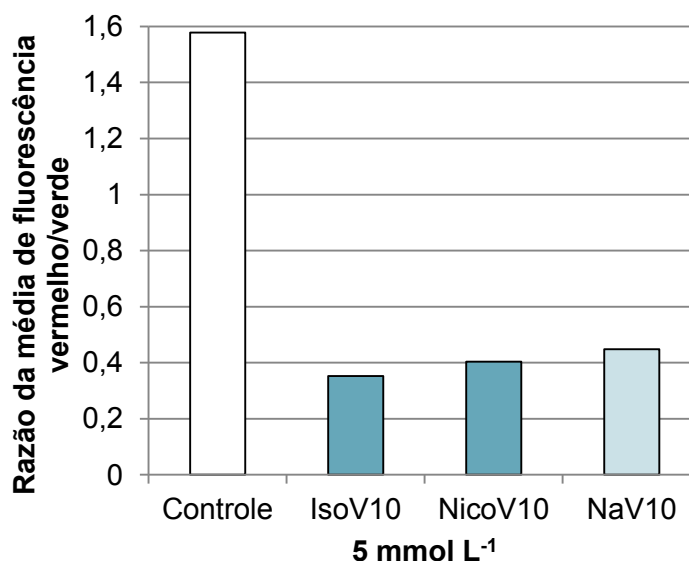


FIGURA 45. Gráfico mostrando a razão entre a fluorescência captada pelos detectores FL2 (585 nm) e FL1 (530 nm) após tratamento das culturas bacterianas com salina a 0,9%, **IsoV₁₀**, **NicoV₁₀** e **NaV₁₀** a 5,0 mmol L⁻¹ e adição da sonda JC-1. As barras de erros não são apresentadas pois o ensaio foi realizado apenas uma vez até o momento.

Estudos *in vitro* mostraram que o V₁₀ aumenta a área superficial de filmes de Langmuir formados por dipalmitoilfosfatidilcolina, o que sugere que o ânion se intercale entre as caudas lipídicas (hidrofóbicas), mudando a sua organização no filme.²⁰¹ Além disso, estudos em modelos de micelas reversas mostraram que o decavanadato é capaz de alterar as ligações de hidrogênio entre moléculas de água próximas à superfície das micelas, mudando, dessa forma, a sua organização.¹⁹⁷ Todos esses fatores poderiam, em princípio, contribuir para o efeito de desacoplamento da membrana bacteriana observado para **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**.

O gradiente de prótons formado através da membrana pelo processo de fosforilação oxidativa atua como uma força motriz para diversos processos celulares. A organização das proteínas do citoesqueleto bacteriano para a divisão celular, por exemplo, requer energia proveniente desse gradiente de prótons. Assim, a perda de $\Delta\Psi$ afeta a capacidade de reprodução das bactérias na cultura. A atividade de inibição do crescimento bacteriano apresentada pelos compostos (Seção 5.4.1) pode estar relacionada desta forma à perda do potencial de membrana.²⁰²

5.4.2.2 Efeito dos decavanadatos sobre a permeabilidade da membrana celular

Bactérias *Gram*-negativas possuem uma membrana celular bastante complexa, constituída por múltiplas camadas, que é responsável pela forma das células, proteção do citoplasma frente às diferenças de pressão osmótica entre os meios externo e interno, e pela captação e excreção de substâncias químicas.

De forma geral, quando uma célula encontra-se sob estresse, alguns dos sistemas de transporte ativo através da membrana são alterados, o que é seguido pela despolarização e finalmente pela perda da integridade da membrana plasmática. A ausência de uma membrana celular intacta leva a um descontrole do gradiente de potencial eletroquímico e expõe a estrutura interna da célula ao meio ambiente, conduzindo à morte.

Atualmente existem diversos fluorocromos que são empregados para avaliar a integridade da membrana celular. Dentre eles, um dos mais utilizados é o conhecido intercalante de DNA iodeto de propídio (FIGURA 46). O iodeto de propídio (IP) é um sal de amônio quaternário dicatiônico que não é capaz de permear a membrana celular de células eucarióticas e procarióticas saudáveis. No entanto, quando a membrana é danificada por algum agente químico ou físico, o IP é incorporado pela célula e acessa seu material genético. Portanto, células marcadas com IP são consideradas não viáveis.¹⁸⁸

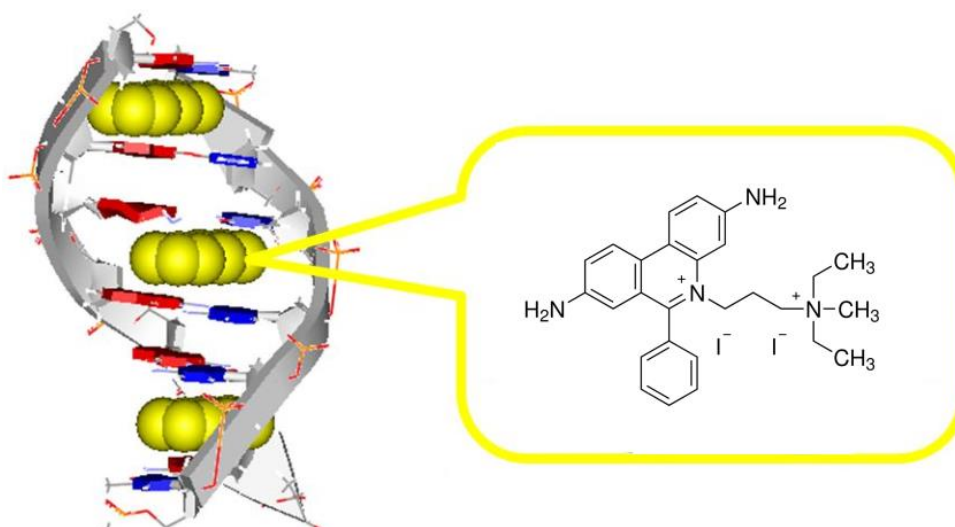


FIGURA 46. Estrutura do iodeto de propídio evidenciando a sua natureza dicatiônica, e representação esquemática do seu modo de intercalação no DNA.

FONTE: Adaptado de TUMIR, L. M. (2014).²⁰³

No ensaio de incorporação de iodeto de propídio, as bactérias previamente tratadas com **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** a 5,0 mmol L⁻¹ receberam o IP a 50 µg L⁻¹ e passaram por leitura no citômetro no canal FL2. Em cada experimento foi medida a fluorescência de aproximadamente 3000 células.

De forma geral, observa-se um comportamento distinto das células tratadas com **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** em relação ao controle. Já o **NaV₁₀** mostra um resultado intermediário entre o controle e os outros dois compostos. As FIGURAS 48a a 48d evidenciam um deslocamento da população de células para uma região de maior intensidade de fluorescência no vermelho, gerada a partir da intercalação do IP ao DNA livre no citoplasma das bactérias. O mesmo resultado pode ser observado nos gráficos de contagem celular apresentados nas FIGURAS 48e a 48h.

A partir da análise densitométrica pode-se calcular a porcentagem das bactérias marcadas e não marcadas com IP (FIGURA 47). Em relação ao controle, a cultura tratada com **NaV₁₀** apresentou um aumento de 24,5% nas células marcadas, bem abaixo dos 100% obtidos para **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**. Isso novamente demonstra a maior toxicidade dos POV associados às moléculas orgânicas.

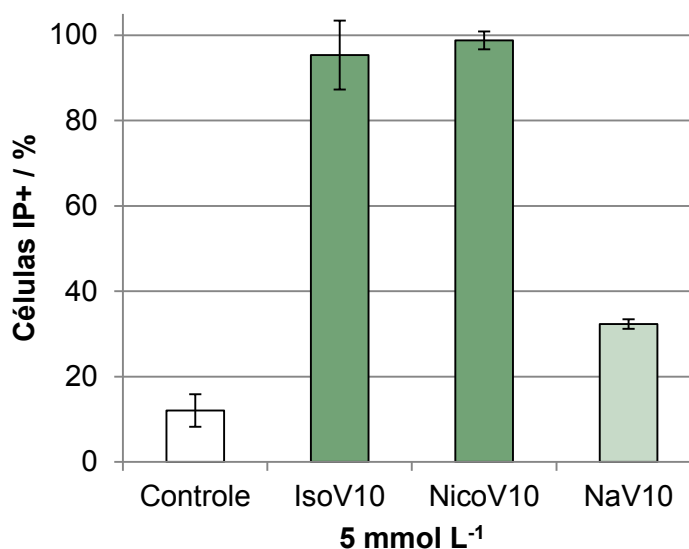


FIGURA 47. Porcentagem da população de células marcadas com iodeto de propídio (IP+) após tratamento das culturas bacterianas com salina a 0,9%, **IsoV₁₀**, **NicoV₁₀** e **NaV₁₀** a 5,0 mmol L⁻¹ e adição de IP.

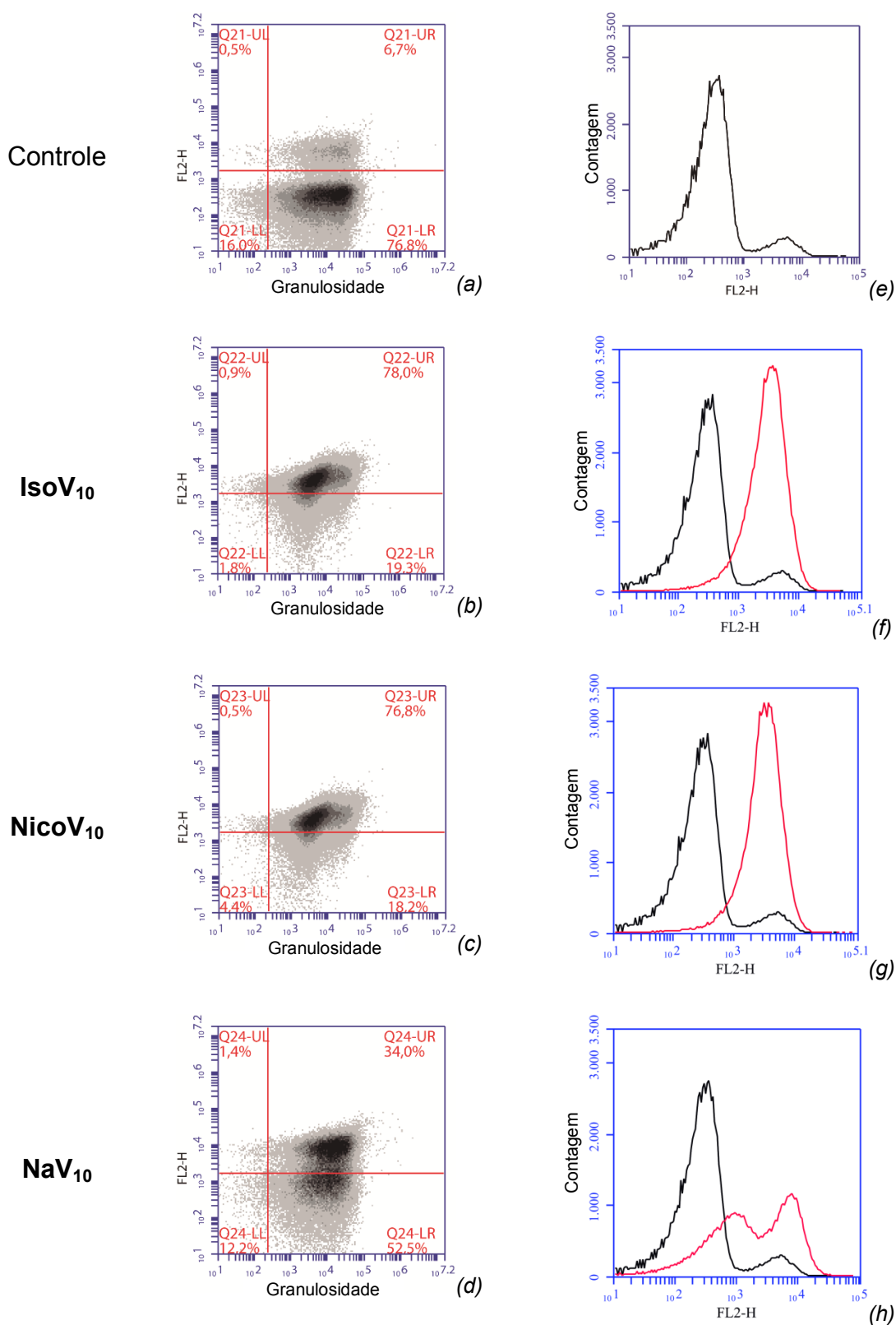


FIGURA 48.

Diagramas representativos das intensidades de fluorescência medidas na região do vermelho após tratamento das culturas bacterianas com salina a 0,9%, IsoV₁₀, NicoV₁₀ e NaV₁₀ a 5,0 mmol L⁻¹ e adição de IP. Na coluna da esquerda, a representação através de diagrama de dispersão mostra o deslocamento da população de células marcadas com IP (mancha mais escura) para cima (maior intensidade de fluorescência) mediante tratamento com IsoV₁₀ e NicoV₁₀, o que indica maior incorporação do IP por essas células em relação ao controle. Na coluna da direita são apresentados os gráficos de linhas gerados a partir dos histogramas produzidos pelas subpopulações de células. A população de células do controle está representada em preto e a população de células que receberam os respectivos tratamentos está representada em vermelho. O deslocamento da banda em vermelho para a direita é indicativo do aumento da intensidade de fluorescência captada pelo detector FL2. *FL2-H = intensidade da fluorescência na região do vermelho.

Em conjunto, o ensaio de avaliação do potencial da membrana (Seção 5.4.2.1) e o ensaio de incorporação do IP indicam que **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** causam despolarização da membrana celular por provocarem danos à mesma, tornando-a permeável a agentes externos como o iodeto de propídio. Ainda, os ensaios descritos na seção 5.4.1 resultaram em cerca de 65% e 75% de inibição do crescimento das culturas tratadas com **IsoV₁₀** e **NicoV₁₀** a 5,0 mmol L⁻¹, respectivamente. Esses resultados, aliados aos obtidos no ensaio de incorporação do IP, são uma forte evidência de que os danos causados na membrana, em 100% da população, são os responsáveis pela inviabilização das culturas.

Em estudos envolvendo o ânion decavanadato em células eucarióticas normais e cancerosas, sugere-se que o processo de morte celular desencadeado pelo polioxovanadato esteja associado ao desacoplamento mitocondrial^{2; 106} e ao aumento na concentração de espécies reativas de oxigênio no meio intracelular, mediado pela inativação de enzimas e proteínas importantes na proteção das células contra agentes oxidantes e pela ativação de vias apoptóticas,^{2; 193} tais como a ativação de caspases. Já em bactérias, o principal mecanismo envolvido parece ser a inibição de bombas de íons transmembrana, com a consequente desregulação do balanço iônico na célula. Em um trabalho em que (terc-ButNH₃)₆[V₁₀O₂₈] foi testado contra *Streptococcus pneumoniae*, uma bactéria Gram-positiva, observou-se um aumento do efluxo de K⁺, indicativo de inibição de canais iônicos na membrana, levando ao processo de morte celular.¹⁰⁷

5.4.2.3 Estimativa da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) por citometria de fluxo

Estudos por espectrofotometria de fluorescência mostram que o decavanadato é capaz de gerar estresse oxidativo em células eucarióticas,²⁰⁴ aumentando a concentração de espécies reativas de oxigênio (ERO) no ambiente intracelular.^{3; 205} Muitas vezes o aumento dos níveis de ERO é acompanhado ou precedido pela perda do potencial de membrana $\Delta\Psi$, como relatado na Seção 5.4.2.1.²⁰⁶ Com base nisso, foi realizado um ensaio para determinar os níveis de ERO nas culturas tratadas com **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**.

O ensaio consistiu em tratar as culturas ressuspensas em tampão PBS com a sonda diacetato de 2',7'-diclorodi-hidrofluoresceína, DCFH-DA, a qual não emite fluorescência e permeia a membrana celular. Após a entrada desta sonda nas células, ocorre a clivagem dos dois grupos éster da DCFH-DA por esterases citoplasmáticas, o que aprisiona a sonda clivada no citoplasma. Na presença de ERO a sonda clivada é oxidada a 2'-7'-diclorofluoresceína (DCF), que é altamente fluorescente na região do verde (530 nm). Uma alta produção de ERO resulta em um aumento da intensidade relativa da mediana de fluorescência (FIGURA 49).

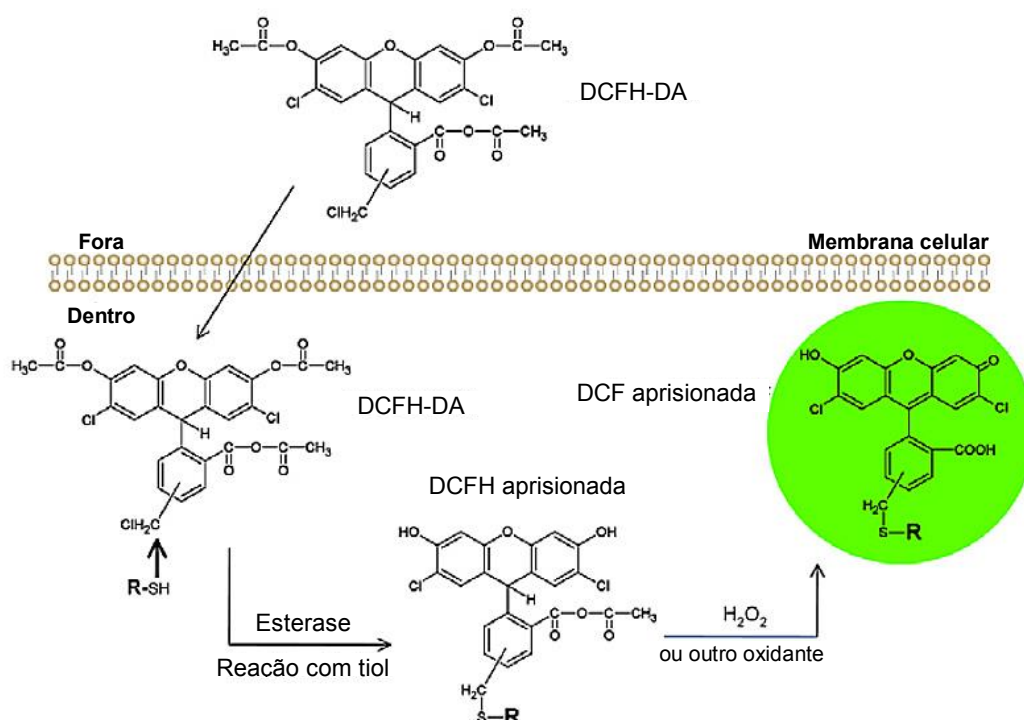


FIGURA 49. Esquema de funcionamento da sonda fluorescente DCFH-DA.

FONTE: Adaptado de NEBRASKA REDOX BIOLOGY CENTER EDUCATIONAL PORTAL (2017).²⁰⁷

A FIGURA 50 apresenta os gráficos de dispersão das populações de células bacterianas e os gráficos de linhas gerados a partir dos histogramas de contagem de células em relação à intensidade de fluorescência emitida. Os gráficos de dispersão mostram um deslocamento da densidade de células para a região de maior intensidade de fluorescência no verde em função do aumento da concentração de DCF, causado pela maior produção de ERO nas células tratadas com os polioxovanadatos.

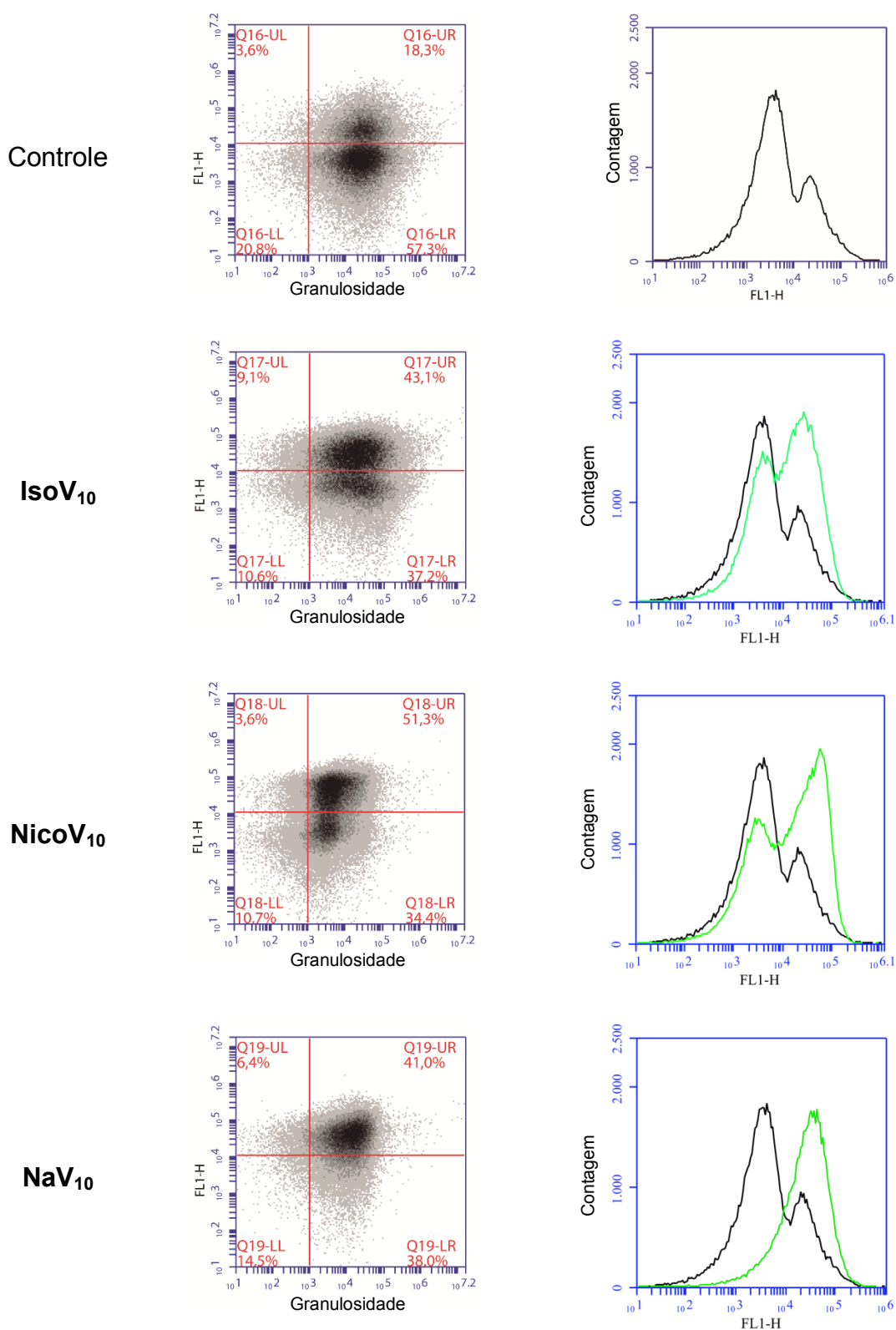


FIGURA 50.

Diagramas representativos das intensidades de fluorescência medidas na região do verde após tratamento das culturas bacterianas com salina a 0,9%, **IsoV₁₀**, **NicoV₁₀** e **NaV₁₀** a 5,0 mmol L⁻¹ e adição de DCFH-DA. Na coluna da esquerda, a representação através de diagrama de dispersão mostra o deslocamento da população de células marcadas com DCFH-DA (mancha mais escura) para cima (maior intensidade de fluorescência) mediante o tratamento com **IsoV₁₀** e **NicoV₁₀**, o que indica maior concentração de DCF (sonda oxidada) nessas células em relação ao controle. Na coluna da direita, a população de células controle está representada em preto e a população de células que receberam os respectivos tratamentos está representada em verde. O deslocamento da banda em verde para a direita é indicativo do aumento da intensidade de fluorescência captada por FL1. *FL1-H = intensidade da fluorescência na região do verde.

A cultura tratada com **NaV₁₀** exibiu um valor da mediana de fluorescência de 7843 unidades arbitrárias (u.a.), ao passo que aquelas tratadas com **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** exibiram valores de 13721 e 11183 u.a. respectivamente, ou seja, entre 1,4 e 1,7 vezes superiores ao registrado para o **NaV₁₀** (FIGURA 51). A amostra controle exibiu um valor de mediana de fluorescência de 2661 u.a., valor cerca de três vezes menor do que o da amostra tratada com **NaV₁₀** e cerca de cinco e quatro vezes menor do que o das amostras tratadas com **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** respectivamente. O aumento na concentração de ERO observado neste ensaio foi compatível com as respectivas porcentagens de células mortas obtidas no ensaio descrito no item 4.2.2.

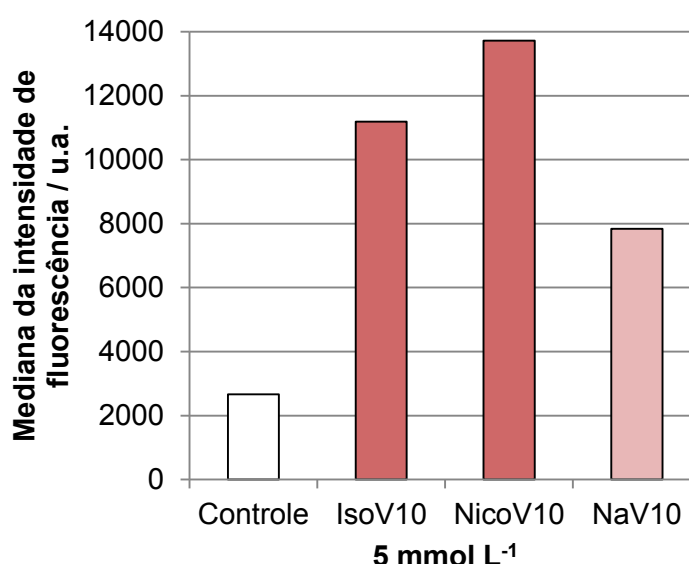


FIGURA 51. Gráfico de barras comparativo das medianas de intensidade de fluorescência entre o controle e as células tratadas com **IsoV₁₀**, **NicoV₁₀** e **NaV₁₀** a 5,0 mmol L⁻¹. Barras de erros não são mostradas pois o ensaio só pôde ser realizado uma vez até o momento.

Ainda não foi possível concluir se **NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** provocaram diretamente esse aumento na produção de ERO nas bactérias ou se o aumento ocorreu em consequência do processo de morte celular, este último induzido pelos danos causados pelos polioxovanadatos na membrana plasmática. Estudos sugerem que o mecanismo de produção de espécies reativas de oxigênio pelo ânion decavanadato é diferente daquele observado para monovanadatos, os quais aumentam as ERO no meio intracelular de modo mais expressivo do que o V₁₀.^{2; 106} Por outro lado, o V₁₀ inibe certas enzimas importantes na proteção das células contra o estresse oxidativo, tais como a superóxido dismutase e a catalase,^{2; 204} além de não sofrer redução pela glutathione,^{2; 3} um tripeptídeo que atua como agente redutor, protegendo as células contra ERO.

Estudos recentes em células eucarióticas sugerem que o aumento da produção de ERO ocorra em decorrência da especiação do V_{10} em espécies monoméricas.^{2; 106} No presente trabalho, por outro lado, os compostos que se mostraram mais estáveis no estudo por RMN de ^{51}V (**NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**) foram aqueles que produziram o maior aumento nos níveis das espécies reativas de oxigênio nas culturas bacterianas. No entanto, ainda não foi possível avaliar se a maior toxicidade está relacionada à estabilidade do POV em solução, ou às mudanças na interação do polioxoânion com a membrana plasmática devidas à presença das moléculas e cátions orgânicos.

5.5 CONSIDERAÇÕES SOBRE A AÇÃO DOS DECAVANADATOS SOBRE AS CULTURAS DE *E. coli*

A análise conjunta dos três ensaios realizados empregando a técnica de citometria de fluxo demonstrou que os compostos sintetizados não somente causam inibição do crescimento das culturas de *E. coli*, mas conduzem à morte das bactérias no meio de cultura. A maior inviabilização das células por **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** expressa a sua maior susceptibilidade aos POV quando estes estão associados a moléculas orgânicas, mesmo que não tóxicas isoladamente. Assim, a presença da nicotinamida e da isonicotinamida mostrou-se importante para os efeitos observados; entretanto, não foi possível comprovar se essa importância reside na manutenção da estrutura do V_{10} em solução ou no auxílio para que o ânion interaja com a membrana celular dos micro-organismos.

Os efeitos do ânion decavanadato sobre células eucarióticas encontram-se relativamente bem descritos na literatura.^{2; 3; 33} Contudo, apesar de haver relatos acerca de sua ação antibiótica, pouco se sabe sobre os efeitos do ânion sobre bactérias, que são estruturalmente e fisiologicamente bastante diferentes de células eucarióticas. A FIGURA 52 ressalta alguns dos potenciais alvos bacterianos sobre os quais o V_{10} pode agir.^{9; 10; 12; 107; 208}

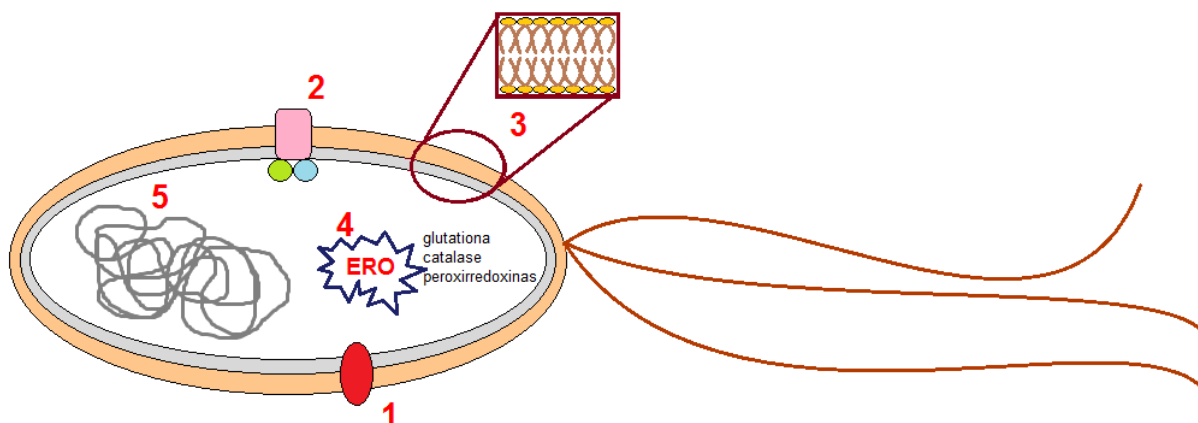


FIGURA 52. Alvos propostos para a ação do ânion decavanadato sobre células procarióticas. 1 – canais iônicos de membrana;¹⁰⁷ 2 – ATPases ABC;²⁰⁸ 3 – bicamada fosfolipídica da membrana celular;²⁰¹ 4 – enzimas e metabólitos responsáveis pela proteção da célula contra o estresse oxidativo;² 5 – material genético da bactéria, não protegido por envelope nuclear.²⁰⁸

Com base nos resultados dos ensaios biológicos e também na literatura, são resumidas nesta seção as hipóteses levantadas em relação à atividade dos compostos estudados sobre as bactérias da espécie *Escherichia coli*.

O ensaio de avaliação do potencial de membrana mostrou que os três compostos avaliados (**NaV₁₀**, **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**) causam desacoplamento da membrana da *E. coli* com consequente perda do gradiente de potencial $\Delta\Psi$. Estudos mostram que o V₁₀ pode interagir com a membrana de muitas formas, entre elas através da inibição de proteínas de membrana^{74; 107; 208} e também por intercalação com os próprios lipídios que constituem a bicamada fosfolipídica da parede celular (número 3 na FIGURA 52).²⁰¹ Isso pode tornar a membrana mais fluida, causando a perda do gradiente de prótons e tornando-a também permeável a outros íons, prejudicando o equilíbrio iônico da célula.

O ensaio de incorporação de iodeto de propídio evidenciou os danos provocados pelos decavanadatos à membrana celular, inviabilizando as células em cultura e possivelmente causando a morte de parte dessa população. A morte das células bacterianas pode estar associada principalmente à inibição de proteínas de membrana provocada pelo decavanadato, representadas pelos números 1 e 2 na FIGURA 52.¹⁰⁷ A inibição de transportadores de íons transmembrana pode levar à morte das células devido à desregulação do balanço iônico existente entre o meio intra e extracelular.

Já o ensaio de produção de espécies reativas de oxigênio mostrou um aumento nos níveis de ERO nas culturas tratadas com os compostos de interesse.

Estudos mostram que tal produção de ERO por polioxovanadatos não ocorre de forma direta, como no caso dos vanadatos simples.^{2; 106} O aumento na produção de ERO provocado pelo decavanadato possivelmente ocorre pela inibição de enzimas e peptídeos antioxidantes presentes no ambiente intracelular,^{2; 106} tais como a catalase, a glutatona e as peroxirredutases (4 na FIGURA 52). Ainda não há relatos acerca da interação direta do decavanadato com o material genético de células (5 na FIGURA 52). No entanto, a inibição da ABC ATPase MutS (um membro da superfamília de ATPases ABC) pelo V_{10} pode, indiretamente, causar mutações no DNA das células procarióticas.²⁰⁸

6 CONCLUSÃO

O decavanadato tem recebido bastante atenção da comunidade científica nos últimos anos, principalmente em relação às suas aplicações em catálise e suas potenciais aplicações farmacológicas. O ânion tem sido considerado um inibidor da atividade de proteínas dependentes de fosfato mais potente do que vanadatos mais simples e outros complexos de vanádio, o que faz do V_{10} um ótimo candidato a agente antidiabético, anticâncer, antiparasitário, antiviral e antibiótico.

Há um conhecimento relativamente amplo acerca dos alvos biológicos do polioxoânion, embora seus mecanismos de ação ainda estejam longe de serem completamente elucidados. Entretanto, na maioria das vezes, esse conhecimento se limita ao ânion decavanadato em si, com pouca informação a respeito do papel que diferentes cátions desempenham na atividade biológica promissora do V_{10} . O presente trabalho buscou fazer novas contribuições para a compreensão do efeito que os cátions têm sobre a ação do decavanadato. As bases orgânicas escolhidas para este estudo são essenciais a organismos vivos, como a vitamina B3 (nicotinamida) e a vitamina B6 (piridoxina), ou são muito utilizadas em meio biológico como tampões (“tris”) e na fabricação de fármacos (isonicotinamida), não oferecendo, assim, risco inerente aos organismos.

A etapa inicial deste trabalho consistiu na adaptação e otimização de diversos métodos de síntese encontrados na literatura. Variaram-se parâmetros tais como:

- materiais de partida: NH_4VO_3 , $NaVO_3$ e V_2O_5 ;
- pH: de 2,0 a 5,0;
- temperatura de refluxo: de 0 a 100 °C;
- tempo de reação: de 1 h a 24 h.

A metodologia que levou aos produtos mais puros e com maior rendimento foi aquela em que se utilizou V_2O_5 como reagente de partida em uma suspensão aquosa com as bases orgânicas de interesse em refluxo por 3 h. Este método foi utilizado para a obtenção dos produtos com nicotinamida – **NicoV₁₀** – e isonicotinamida – **IsoV₁₀**. Tentativas partindo do pentóxido de vanádio(V) ainda serão realizadas com variações nas condições de reação para se obter um produto **TrisV₁₀** mais puro. A síntese de **PirV₂** também deverá ser otimizada de modo a aumentar o rendimento e a pureza do produto.

Dentre os compostos de vanádio, a química do decavanadato é relativamente nova. Apesar de haver um número expressivo de estudos acerca do polioxoânion, ainda há muito a se entender a respeito da química do POV tanto no estado sólido quanto em solução. Sínteses de novos materiais contendo o ânion associado a cátions orgânicos com os grupamentos amina, amida ou ácido carboxílico podem auxiliar no entendimento sobre as interações do V_{10} com proteínas em meio biológico.

Dois produtos inéditos na literatura foram sintetizados: $(1,4-C_6H_7N_2O)_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 2C_6H_6N_2O$ (**IsoV₁₀**) e $[NH_3C(CH_2OH)_3]_4[V_{10}H_2O_{28}] \cdot 10H_2O$ (**TrisV₁₀**). A estrutura cristalina de $(1,3-C_6H_7N_2O)_4[H_2V_{10}O_{28}] \cdot 2H_2O \cdot 2C_6H_6N_2O$ (**NicoV₁₀**) já havia sido descrita, mas o produto foi caracterizado de forma mais completa pela primeira vez como parte do presente estudo. O produto **PirV₂** – $[(VO_2)_2\mu_2-(C_8H_{10}NO_3)_2]$ – também já havia sido relatado em termos de sua análise cristalográfica. Os produtos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** foram caracterizados no estado sólido e em solução aquosa, tendo suas formulações e pureza confirmadas por todas as técnicas. **TrisV₁₀** e **PirV₂**, por outro lado, ainda se encontram em fase de caracterização e não foram abordados em detalhes.

Os decavanadatos contendo nicotinamida e isonicotinamida (e seus respectivos ácidos conjugados) revelaram-se como cocristais através da análise por DRX de monocristal. A cocrystalização de produtos com decavanadato ainda não é muito explorada, fazendo-se necessários novos estudos com variação das condições sintéticas tendo em vista explorar as condições que levam à formação de sais ou de cocristais. Outros estudos que podem auxiliar na compreensão desses sistemas estão relacionados a parâmetros físico-químicos, que podem ser obtidos por meio de ensaios termodinâmicos e cinéticos. Embora este trabalho tenha demonstrado o aumento da toxicidade pela combinação do decavanadato com moléculas orgânicas, ainda não foi avaliado se a cocrystalização de moléculas orgânicas catiônicas e neutras com o POV tem efeito expressivo sobre esse sistema.

Os produtos **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀** foram testados quanto à inibição da viabilidade celular em culturas de *Escherichia coli* DH5 α . O polímero de coordenação $[Na_6(H_2O)_{20}V_{10}O_{28} \cdot 4H_2O]_n$, **NaV₁₀**, foi utilizado como referência sem cátions orgânicos para comparação. O que se observou foi uma grande diminuição da viabilidade celular provocada pelos decavanadatos com cátions orgânicos, em contraste com aquela observada para o decavanadato com sódio. Uma inibição de

quase 80% foi obtida com **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**, enquanto **NaV₁₀** inibiu o crescimento das culturas em cerca de 40%. Tal diferença corrobora dados da literatura de que as moléculas orgânicas associadas ao decavanadato podem potencializar os efeitos do ânion por melhorar sua absorção pelas células. No entanto, estudos mais aprofundados devem ser conduzidos a fim de confirmar tal hipótese.

Os ensaios por citometria de fluxo forneceram informações interessantes e inéditas nos estudos de polioxovanadatos quanto ao seu efeito biológico. Eles mostraram que não somente os compostos diminuem a viabilidade das células bacterianas, mas também provocam sua morte com perda do potencial de membrana. A análise da produção de espécies reativas de oxigênio pelas bactérias tratadas com os compostos de interesse mostrou que há um aumento da concentração de ERO nessas células, o que parece confirmar relatos da literatura de que o V₁₀ tem seu efeito tóxico provocado, dentre outros fatores, por estresse oxidativo no ambiente intracelular.

As sínteses dos produtos **TrisV₁₀** e **PirV₂** levaram a resultados interessantes no que diz respeito à química redox e de coordenação do vanádio, além de trazer questionamentos acerca da contribuição das espécies orgânicas para essa química. Nas próximas etapas do trabalho, a caracterização de ambos os produtos deverá ser concluída e **TrisV₁₀**, dada sua boa solubilidade em água, também será empregado nos ensaios biológicos para comparação com **NicoV₁₀** e **IsoV₁₀**.

Estudos envolvendo o ânion decavanadato em organismos vivos ainda são escassos, principalmente no que diz respeito à sua ação em bactérias, cuja biologia molecular e processos celulares são bastante diferentes daqueles de células eucarióticas. A compreensão de como o ânion decavanadato é absorvido pelas células procarióticas, quais são os seus sítios de ação e como ele interage com enzimas e transportadores no meio intracelular ainda constitui um desafio no estudo desse polioxovanadato. O presente trabalho tem procurado trazer ferramentas adicionais para o estudo da química e bioquímica do ânion decavanadato, procurando racionalizar o papel dos cátions orgânicos nesses dois aspectos.

REFERÊNCIAS

- 1 REHDER, D. The future of/for vanadium. **Dalton Transactions**, v. 42, n. 33, p. 11749-11761, 2013.
- 2 AURELIANO, M. Decavanadate Toxicology and Pharmacological Activities: V10 or V1, Both or None? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 8, 2016.
- 3 AURELIANO, M.; OHLIN, C. A. Decavanadate in vitro and in vivo effects: facts and opinions. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 137, p. 123-130, 2014.
- 4 THOMPSON, K. H.; ORVIG, C. Vanadium in diabetes: 100 years from Phase 0 to Phase I. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100, n. 12, p. 1925-1935, 2006.
- 5 TREVINO, S.; SANCHEZ-LARA, E.; SARMIENTO-ORTEGA, V. E.; SANCHEZ-LOMBARDO, I.; FLORES-HERNANDEZ, J. A.; PEREZ-BENITEZ, A.; BRAMBILA-COLOMBRES, E.; GONZALEZ-VERGARA, E. Hypoglycemic, lipid-lowering and metabolic regulation activities of metforminium decavanadate (H₂Metf)₃ [V₁₀O₂₈].8H₂O using hypercaloric-induced carbohydrate and lipid deregulation in Wistar rats as biological model. **J Inorg Biochem**, v. 147, p. 85-92, 2015.
- 6 TREVINO, SAMUEL; VELAZQUEZ-VAZQUEZ, D.; SANCHEZ-LARA, E.; DIAZ-FONSECA, A.; FLORES-HERNANDEZ, J.; PEREZ-BENITEZ, A.; BRAMBILA-COLOMBRES, E.; GONZALEZ-VERGARA, E. Metforminium Decavanadate as a Potential Metallopharmaceutical Drug for the Treatment of Diabetes Mellitus. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 14, 2016.
- 7 KIOSEOGLOU, E.; GABRIEL, C.; PETANIDIS, S.; PSYCHARIS, V.; RAPTOPOULOU, C. P.; TERZIS, A.; SALIFOGLU, A. Binary Decavanadate-Betaine Composite Materials of Potential Anticarcinogenic Activity. **Zeitschrift Fur Anorganische Und Allgemeine Chemie**, v. 639, n. 8-9, p. 1407-1416, 2013.
- 8 GALANI, A.; TSITSIAS, V.; STELLAS, D.; PSYCHARIS, V.; RAPTOPOULOU, C. P.; KARALIOTA, A. Two novel compounds of vanadium and molybdenum with carnitine exhibiting potential pharmacological use. **J Inorg Biochem**, v. 142C, p. 109-117, 2014.
- 9 TOUMI, S.; RATEL-RAMOND, N.; AKRICHE, S. Decavanadate Cage-like Cluster Templated by Organic Counter Cation: Synthesis, Characterization and Its Antimicrobial Effect Against Gram Positive E. Feacium. **Journal of Cluster Science**, v. 26, n. 5, p. 1821-1831, 2015.
- 10 SHAHID, M.; SHARMA, P. K.; ANJULI; CHIBBER, S.; SIDDIQI, Z. A. Isolation of a Decavanadate Cluster [H₂V₁₀O₂₈][4-picH]₄·2H₂O (4-pic = 4-picoline): Crystal Structure, Electrochemical Characterization, Genotoxic and Antimicrobial Studies. **Journal of Cluster Science**, v. 25, n. 5, p. 1435-1447, 2014.
- 11 BOUGIE, I.; BISAILLON, M. Inhibition of a metal-dependent viral RNA triphosphatase by decavanadate. **Biochem J**, v. 398, n. 3, p. 557-67, 2006.

- 12 CHEN, S. P.; WU, G. Z.; LONG, D. W.; LIU, Y. D. Preparation, characterization and antibacterial activity of chitosan-Ca₃V₁₀O₂₈ complex membrane. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, n. 1, p. 92-97, 2006.
- 13 KORBECKI, J.; BARANOWSKA-BOSIACKA, I.; GUTOWSKA, I.; CHLUBEK, D. Biochemical and medical importance of vanadium compounds. **Acta Biochimica Polonica**, v. 59, n. 2, p. 195-200, 2012.
- 14 GIELEN, M.; TIEKINK, E. R. T. **Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents. The use of metals in medicine.** West Sussex: John Wiley & Sons, 2005.
- 15 TREFRY, J. H.; METZ, S. Role of Hydrothermal Precipitates in the Geochemical Cycling of Vanadium. **Nature**, v. 342, n. 6249, p. 531-533, 1989.
- 16 UEKI, T.; YAMAGUCHI, N.; ROMAIDI; ISAGO, Y.; TANAHASHI, H. Vanadium accumulation in ascidians: A system overview. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 301-302, p. 300-308, 2015.
- 17 HAMADA, T.; ASANUMA, M.; UEKI, T.; HAYASHI, F.; KOBAYASHI, N.; YOKOYAMA, S.; MICHIBATA, H.; HIROTA, H. Solution structure of vanabin2, a vanadium(IV)-binding protein from the vanadium-rich ascidian *Ascidia sydneyensis* samea. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 12, p. 4216-4222, 2005.
- 18 DA SILVA, J. A. L.; DA SILVA, J. J. R. F.; POMBEIRO, A. J. L. Amavadin, a vanadium natural complex: Its role and applications. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, n. 15-16, p. 2388-2400, 2013.
- 19 BERRY, R. E.; ARMSTRONG, E. M.; BEDDOES, R. L.; COLLISON, D.; ERTOK, S. N.; HELLIWELL, M.; GARNER, C. D. The Structural Characterization of Amavadin. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 38, n. 6, p. 795-797, 1999.
- 20 DOMARUS, M.; KUZNETSOV, M. L.; MARCALO, J.; POMBEIRO, A. J.; DA SILVA, J. A. Amavadin and Homologues as Mediators of Water Oxidation. **Angew Chem Int Ed Engl**, v. 55, n. 4, p. 1489-92, 2016.
- 21 REHDER, D. Vanadium nitrogenase. **J Inorg Biochem**, v. 80, n. 1-2, p. 133-6, May 30 2000.
- 22 BUTLER, A. Vanadium haloperoxidases. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 2, n. 2, p. 279-285, 1998/04/01 1998.
- 23 HU, Y.; LEE, C. C.; RIBBE, M. W. Vanadium nitrogenase: a two-hit wonder? **Dalton Trans**, v. 41, n. 4, p. 1118-27, 2012.
- 24 REHDER, D. The role of vanadium in biology. **Metallomics**, v. 7, n. 5, p. 730-42, 2015.
- 25 REES, J. A.; BJORNSSON, R.; SCHLESIER, J.; SIPPEL, D.; EINSLE, O.; DEBEER, S. The Fe-V Cofactor of Vanadium Nitrogenase Contains an Interstitial Carbon Atom. **Angew Chem Int Ed Engl**, v. 54, n. 45, p. 13249-52, 2015.

- 26 Vanadium (vanadyl sulfate). Monograph. **Altern Med Rev**, v. 14, n. 2, p. 177-80, 2009.
- 27 SHAH, S. Z. H.; NAVEED, A. K.; RASHID, A. NEPHROTOXICITY BY ORAL VANADYL SULPHATE IN RATS. **PAFMJ**, v. 66, n. 3, p. 386-389, 2016.
- 28 GRUZEWSKA, K.; MICHNO, A.; PAWELCZYK, T.; BIELARCZYK, H. Essentiality and toxicity of vanadium supplements in health and pathology. **J Physiol Pharmacol**, v. 65, n. 5, p. 603-11, 2014.
- 29 CRANS, D. C. Fifteen years of dancing with vanadium. **Pure and Applied Chemistry**, v. 77, n. 9, p. 1497-1527, 2005.
- 30 FRAQUEZA, G.; BATISTA DE CARVALHO, L. A. E.; MARQUES, M. P. M.; MAIA, L.; OHLIN, C. A.; CASEY, W. H.; AURELIANO, M. Decavanadate, decaniobate, tungstate and molybdate interactions with sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase: quercetin prevents cysteine oxidation by vanadate but does not reverse ATPase inhibition. **Dalton Transactions**, v. 41, n. 41, p. 12749-12758, 2012.
- 31 ATTIA, S. M.; BADARY, O. A.; HAMADA, F. M.; DE ANGELIS, M. H.; ADLER, I. D. Orthovanadate increased the frequency of aneuploid mouse sperm without micronucleus induction in mouse bone marrow erythrocytes at the same dose level. **Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 583, n. 2, p. 158-167, 2005.
- 32 PESSOA, J. C.; ETCHEVERRY, S.; GAMBINO, D. Vanadium compounds in medicine. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 301–302, p. 24-48, 2015.
- 33 AURELIANO, M. Decavanadate: a journey in a search of a role. **Dalton Transactions**, n. 42, p. 9093-9100, 2009.
- 34 MUKHERJEE, B.; PATRA, B.; MAHAPATRA, S.; BANERJEE, P.; TIWARI, A.; CHATTERJEE, M. Vanadium - an element of atypical biological significance. **Toxicology Letters**, v. 150, n. 2, p. 135-143, 2004.
- 35 RAAB, A.; STIBOLLER, M.; GAJDOSECHOVA, Z.; NELSON, J.; FELDMANN, J. Element content and daily intake from dietary supplements (nutraceuticals) based on algae, garlic, yeast fish and krill oils—Should consumers be worried? **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 53, p. 49-60, 2016.
- 36 THOMPSON, K. H.; ORVIG, C. Coordination chemistry of vanadium in metallopharmaceutical candidate compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 219, p. 1033-1053, 2001.
- 37 COSTA PESSOA, J.; GARRIBBA, E.; SANTOS, M. F. A.; SANTOS-SILVA, T. Vanadium and proteins: Uptake, transport, structure, activity and function. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 301–302, p. 49-86, 2015.
- 38 YUEN, V. G.; ORVIG, C.; MCNEILL, J. H. Glucose-lowering effects of a new organic vanadium complex, bis(maltolato)oxovanadium(IV). **Can J Physiol Pharmacol**, v. 71, n. 3-4, p. 263-9, 1993.
- 39 WINTER, P. W.; AL-QATATI, A.; WOLF-RINGWALL, A. L.; SCHOEBERL, S.; CHATTERJEE, P. B.; BARISAS, B. G.; ROESS, D. A.; CRANS, D. C. The anti-diabetic bis(maltolato)oxovanadium(IV) decreases lipid order while increasing insulin

- receptor localization in membrane microdomains. **Dalton Transactions**, v. 41, n. 21, p. 6419-6430, 2012.
- 40 THOMPSON, K. H.; LICHTER, J.; LEBEL, C.; SCAIFE, M. C.; MCNEILL, J. H.; ORVIG, C. Vanadium treatment of type 2 diabetes: a view to the future. **J Inorg Biochem**, v. 103, n. 4, p. 554-8, 2009.
 - 41 CORREIA, I.; ADÃO, P.; ROY, S.; WAHBA, M.; MATOS, C.; MAURYA, M. R.; MARQUES, F.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; AVECILLA, F.; COSTA PESSOA, J. Hydroxyquinoline derived vanadium(IV and V) and copper(II) complexes as potential anti-tuberculosis and anti-tumor agents. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 141, p. 83-93, 2014.
 - 42 D'CRUZ, O. J.; UCKUN, F. M. Metvan: a novel oxovanadium(IV) complex with broad spectrum anticancer activity. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 11, n. 12, p. 1829-36, 2002.
 - 43 BENÍTEZ, J.; CORREIA, I.; BECCO, L.; FERNÁNDEZ, M.; GARAT, B.; GALLARDO, H.; CONTE, G.; KUZNETSOV, M. L.; NEVES, A.; MORENO, V.; COSTA PESSOA, J.; GAMBINO, D. Searching for Vanadium-Based Prospective Agents against *Trypanosoma cruzi*: Oxidovanadium(IV) Compounds with Phenanthroline Derivatives as Ligands. **Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie**, v. 639, n. 8-9, p. 1417-1425, 2013.
 - 44 WANG, X. H.; LIU, J. F.; POPE, M. T. New polyoxometalate/starch nanomaterial: synthesis, characterization and antitumoral activity. **Dalton Transactions**, n. 5, p. 957-960, 2003.
 - 45 AMMAM, M. Polyoxometalates: formation, structures, principal properties, main deposition methods and application in sensing. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 1, n. 21, p. 6291-6312, 2013.
 - 46 MULLER, A.; KRICKEMEYER, E.; MEYER, J.; BOGGE, H.; PETERS, F.; PLASS, W.; DIEMANN, E.; DILLINGER, S.; NONNENBRUCH, F.; RANERATH, M.; MENKE, C. [Mo-154(NO)(14)O-420(Oh)(28)(H2O)(70)]((25+5)-) - a Water-Soluble Big Wheel with More Than 700 Atoms and a Relative Molecular-Mass of About 24000. **Angewandte Chemie-International Edition in English**, v. 34, n. 19, p. 2122-2124, 1995.
 - 47 MULLER, A.; BECKMANN, E.; BOGGE, H.; SCHMIDTMANN, M.; DRESS, A. Inorganic chemistry goes protein size: A Mo-368 nano-hedgehog initiating nanochemistry by symmetry breaking. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 41, n. 7, p. 1162-+, 2002.
 - 48 LOPEZ, X.; CARBO, J. J.; BO, C.; POBLET, J. M. Structure, properties and reactivity of polyoxometalates: a theoretical perspective. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 22, p. 7537-7571, 2012.
 - 49 SONG, Y. F.; LONG, D. L.; RITCHIE, C.; CRONIN, L. Nanoscale Polyoxometalate-Based Inorganic/Organic Hybrids. **Chemical Record**, v. 11, n. 3, p. 158-171, 2011.
 - 50 NEUMANN, R.; DAHAN, M. A ruthenium-substituted polyoxometalate as an inorganic dioxygenase for activation of molecular oxygen. **Nature**, v. 388, n. 6640, p. 353-355, 1997.

- 51 MIZUNO, N.; MISONO, M. Heterogenous catalysis. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 1, p. 199-217, 1998.
- 52 OKUN, N. M.; ANDERSON, T. M.; HILL, C. L. Polyoxometalates on cationic silica - Highly selective and efficient O₂/air-based oxidation of 2-chloroethyl ethyl sulfide at ambient temperature. **Journal of Molecular Catalysis a-Chemical**, v. 197, n. 1-2, p. 283-290, 2003.
- 53 KAMATA, K.; YONEHARA, K.; SUMIDA, Y.; YAMAGUCHI, K.; HIKICHI, S.; MIZUNO, N. Efficient epoxidation of olefins with $\geq 99\%$ selectivity and use of hydrogen peroxide. **Science**, v. 300, n. 5621, p. 964-966, 2003.
- 54 KHENKIN, A. M.; NEUMANN, R. Oxygen transfer from sulfoxides: Oxidation of alkylarenes catalyzed by a polyoxomolybdate, [PMo₁₂O₄₀](3-). **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 16, p. 4198-4199, 2002.
- 55 KOZHEVNIKOVA, E. F.; KOZHEVNIKOV, I. V. A calorimetric study of the acidity of bulk and silica-supported heteropoly acid H₃PW₁₂O₄₀. **Journal of Catalysis**, v. 224, n. 1, p. 164-169, 2004.
- 56 POPE, M. T.; MULLER, A. Polyoxometalate Chemistry - an Old Field with New Dimensions in Several Disciplines. **Angewandte Chemie-International Edition in English**, v. 30, n. 1, p. 34-48, 1991.
- 57 MA, H. Y.; PENG, J.; HAN, Z. G.; YU, X.; DONG, B. X. A novel biological active multilayer film based on polyoxometalate with pendant support-ligand. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 178, n. 12, p. 3735-3739, 2005.
- 58 TURNER, T. L.; NGUYEN, V. H.; MCLAUCHLAN, C. C.; DYMON, Z.; DORSEY, B. M.; HOOKER, J. D.; JONES, M. A. Inhibitory effects of decavanadate on several enzymes and *Leishmania tarentolae* In Vitro. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 108, p. 96-104, 2012.
- 59 YAMASE, T. Anti-tumor, -viral, and -bacterial activities of polyoxometalates for realizing an inorganic drug. **Journal of Materials Chemistry**, v. 15, n. 45, p. 4773-4782, 2005.
- 60 CHATKON, A.; BARRES, A.; SAMART, N.; BOYLE, S. E.; HALLER, K. J.; CRANS, D. C. Guanylurea metformium double salt of decavanadate, (HGU(+))(4)(HMet(+))(2)(V₁₀O₂₈6-)-center dot(H₂O)-H-2. **Inorganica Chimica Acta**, v. 420, p. 85-91, 2014.
- 61 AURELIANO, M.; FRAQUEZA, G.; OHLIN, C. A. Ion pumps as biological targets for decavanadate. **Dalton Transactions**, v. 42, n. 33, p. 11770-11777, 2013.
- 62 WAN, H.; WANG, C.; ZHANG, Y.; MIAO, H.; ZHOU, S.; XU, Y. Four 2D "fully reduced" polyoxovanadates: vanadium oxide clusters encapsulating different guest molecules. **Inorg Chem**, v. 53, n. 19, p. 10498-505, 2014.
- 63 ANTONOVA, E.; NATHER, C.; BENSCH, W. Assembly of [V₁₅Sb₆O₄₂(H₂O)]₆-cluster shells into higher dimensional aggregates via weak Sb[three dots, centered]N/Sb[three dots, centered]O intercluster interactions and a new polyoxovanadate with a discrete [V₁₆Sb₄O₄₂(H₂O)]₈- cluster shell. **CrystEngComm**, v. 14, n. 20, p. 6853-6859, 2012.

- 64 DAY, V. W.; KLEMPERER, W. G.; YAGASAKI, A. Synthesis and Structure of the New Organometallic Polyoxovanadates, $[(\text{Eta-C}_8\text{H}_{12})\text{Ir}]_2(\text{V}_4\text{O}_{12})^{2-}$ and $[(\text{Eta-C}_8\text{H}_{12})\text{Ir}(\text{V}_4\text{O}_{12})]^{3-}$. **Chemistry Letters**, n. 8, p. 1267-1270, 1990.
- 65 DAY, V. W.; KLEMPERER, W. G.; YAGHI, O. M. A New Structure Type in Polyoxoanion Chemistry - Synthesis and Structure of the $\text{V}_5\text{O}_{14}^{3-}$ Anion. **Journal of the American Chemical Society**, v. 111, n. 12, p. 4518-4519, 1989.
- 66 EVANS, H. T. Molecular Structure of Isopoly Complex Ion Decavanadate ($\text{V}_{10}\text{O}_{28}^{6-}$). **Inorganic Chemistry**, v. 5, n. 6, p. 967-968, 1966.
- 67 DAY, V. W.; KLEMPERER, W. G.; YAGHI, O. M. Synthesis and Characterization of a Soluble Oxide Inclusion Complex, $[\text{CH}_3\text{CN} \text{ Subset-of} (\text{V}_{12}\text{O}_{32})]^{4-}$. **Journal of the American Chemical Society**, v. 111, n. 15, p. 5959-5961, 1989.
- 68 HOU, D.; HAGEN, K. S.; HILL, C. L. Tridecavanadate, $[\text{V}_{13}\text{O}_{34}]^{3-}$, a New High-Potential Isopolyvanadate. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v. 204, p. 352-INOR, 1992.
- 69 MULLER, A.; PENK, M.; ROHLFING, R.; KRICKEMEYER, E.; DORING, J. Topologically Interesting Cages for Negative-Ions with Extremely High Coordination-Number - an Unusual Property of V-O Clusters. **Angewandte Chemie-International Edition in English**, v. 29, n. 8, p. 926-927, 1990.
- 70 HAYASHI, Y.; FUKUYAMA, K.; TAKATERA, T.; UEHARA, A. Synthesis and structure of a new reduced isopolyvanadate, $[\text{V}_{17}\text{O}_{42}]^{4-}$. **Chemistry Letters**, n. 7, p. 770-771, 2000.
- 71 JOHNSON, G. K.; SCHLEMPER, E. O. Existence and Structure of Molecular Ion 18-Vanadate(IV). **Journal of the American Chemical Society**, v. 100, n. 11, p. 3645-3646, 1978.
- 72 MULLER, A.; ROHLFING, R.; DORING, J.; PENK, M. Formation of a Cluster Sheath around a Central Cluster by a Self-Organization Process - the Mixed-Valence Polyoxovanadate $[\text{V}_{34}\text{O}_{82}]^{10-}$. **Angewandte Chemie-International Edition in English**, v. 30, n. 5, p. 588-590, 1991.
- 73 MONAKHOV, K. Y.; BENSCH, W.; KOGERLER, P. Semimetal-functionalised polyoxovanadates. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 23, p. 8443-8483, 2015.
- 74 AURELIANO, M. Recent perspectives into biochemistry of decavanadate. **World J Biol Chem**, v. 2, n. 10, p. 215-25, 2011.
- 75 AURELIANO, M.; CRANS, D. C. Decavanadate ($\text{V}_{10}\text{O}_{28}^{6-}$) and oxovanadates: Oxometalates with many biological activities. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 103, n. 4, p. 536-546, 2009.
- 76 GORZSAS, A.; ANDERSSON, I.; PETTERSSON, L. Speciation in aqueous vanadate-ligand and peroxovanadate-ligand systems. **J Inorg Biochem**, v. 103, n. 4, p. 517-26, 2009.
- 77 LEE, U.; JUNG, Y. H.; JOO, H. C.; PARK, K. M. A new decavanadate with a tricobalt(II) cation and 18-crown-6, $\text{tris}\{\text{hexaaquacobalt(II)}\}$ decavanadate bis(18-crown-6) decahydrate. **Acta Crystallographica Section E-Structure Reports Online**, v. 59, p. M421-M424, 2003.

- 78 YRAOLA, F.; GARCIA-VICENTE, S.; MARTI, L.; ALBERICIO, F.; ZORZANO, A.; ROYO, M. Understanding the mechanism of action of the novel SSAO substrate (C₇NH₁₀)₆(V₁₀O₂₈).2H₂O, a prodrug of peroxovanadate insulin mimetics. **Chem Biol Drug Des**, v. 69, n. 6, p. 423-8, 2007.
- 79 CHATKON, A.; CHATTERJEE, P. B.; SEDGWICK, M. A.; HALLER, K. J.; CRANS, D. C. Counterion Affects Interaction with Interfaces: The Antidiabetic Drugs Metformin and Decavanadate. **European Journal of Inorganic Chemistry**, n. 10-11, p. 1859-1868, 2013.
- 80 NAKAMURA, S.; OZEKI, T. Hydrogen-bonded aggregates of protonated decavanadate anions in their tetraalkylammonium salts. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, n. 4, p. 472-480, 2001.
- 81 ZEBISCH, M.; KRAUSS, M.; SCHAFER, P.; STRATER, N. Structures of Legionella pneumophila NTPDase1 in complex with polyoxometallates. **Acta Crystallographica Section D-Biological Crystallography**, v. 70, p. 1147-1154, 2014.
- 82 WILLISKY, G. R.; GOLDFINE, A. B.; KOSTYNIK, P. J. Pharmacology and Toxicology of Oxovanadium Species: Oxovanadium Pharmacology. In: (Ed.). **Vanadium Compounds**: American Chemical Society, v.711, 1998.
- 83 PESSOA, J. C.; GONCALVES, G.; ROY, S.; CORREIA, I.; MEHTAB, S.; SANTOS, M. F. A.; SANTOS-SILVA, T. New insights on vanadium binding to human serum transferrin. **Inorganica Chimica Acta**, v. 420, p. 60-68, 2014.
- 84 SANCHEZ-LOMBARDO, I.; SANCHEZ-LARA, E.; PEREZ-BENITEZ, A.; MENDOZA, A.; BERNES, S.; GONZALEZ-VERGARA, E. Synthesis of Metforminium(2+) Decavanadates - Crystal Structures and Solid-State Characterization. **European Journal of Inorganic Chemistry**, n. 27, p. 4581-4588, 2014.
- 85 RAMOS, S.; MOURA, J. J.; AURELIANO, M. Recent advances into vanadyl, vanadate and decavanadate interactions with actin. **Metallomics**, v. 4, n. 1, p. 16-22, 2012.
- 86 GARCIA-VICENTE, S.; YRAOLA, F.; MARTI, L.; GONZALEZ-MUNOZ, E.; GARCIA-BARRADO, M. J.; CANTO, C.; ABELLA, A.; BOUR, S.; ARTUCH, R.; SIERRA, C.; BRANDI, N.; CARPENE, C.; MORATINOS, J.; CAMPS, M.; PALACIN, M.; TESTAR, X.; GUMA, A.; ALBERICIO, F.; ROYO, M.; MIAN, A.; ZORZANO, A. Oral insulin-mimetic compounds that act independently of insulin. **Diabetes**, v. 56, n. 2, p. 486-93, 2007.
- 87 RAMOS, S.; DUARTE, R. O.; MOURA, J. J.; AURELIANO, M. Decavanadate interactions with actin: cysteine oxidation and vanadyl formation. **Dalton Trans**, n. 38, p. 7985-94, 2009.
- 88 RAMOS, S.; MOURA, J. J.; AURELIANO, M. Actin as a potential target for decavanadate. **J Inorg Biochem**, v. 104, n. 12, p. 1234-9, 2010.
- 89 SAMART, N.; SAEGER, J.; HALLER, K. J.; AURELIANO, M.; CRANS, D. C. INTERACTION OF DECAVANADATE WITH INTERFACES AND BIOLOGICAL MODEL MEMBRANE SYSTEMS: CHARACTERIZATION OF SOFT OXOMETALATE SYSTEMS. **Journal of Molecular and Engineering Materials**, v. 02, n. 01, p. 1440007, 2014.

- 90 HAN, J. W.; HARDCASTLE, K. I.; HILL, C. L. Redox-Active Coordination Polymers from Esterified Hexavanadate Units and Divalent Metal Cations. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2006, n. 13, p. 2598-2603, 2006.
- 91 XIAO, Z.; CHEN, K.; WU, B.; LI, W.; WU, P.; WEI, Y. An Easy Way to Construct Polyoxovanadate-Based Organic–Inorganic Hybrids by Stepwise Functionalization. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2016, n. 6, p. 808-811, 2016.
- 92 YIN, P.; WU, P.; XIAO, Z.; LI, D.; BITTERLICH, E.; ZHANG, J.; CHENG, P.; VEZENOV, D. V.; LIU, T.; WEI, Y. A Double-Tailed Fluorescent Surfactant with a Hexavanadate Cluster as the Head Group. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 11, p. 2521-2525, 2011.
- 93 ALLAIN, C.; FAVETTE, S.; CHAMOREAU, L.-M.; VAISSERMANN, J.; RUHLMANN, L.; HASENKNOFF, B. Hybrid Organic–Inorganic Porphyrin–Polyoxometalate Complexes. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2008, n. 22, p. 3433-3441, 2008.
- 94 DOMAE, K.; UCHIMURA, D.; KOYAMA, Y.; INAMI, S.; HAYASHI, Y.; ISOBE, K.; KAMEDA, H.; SHIMODA, T. Synthesis of a bowl-type dodecavanadate by the coupling reaction of alkoxohexavanadate and discovery of a chiral octadecavanadate. **Pure and Applied Chemistry**, v. 81, n. 7, p. 1323-1330, 2009.
- 95 ZHAI, H. J.; LIU, S. X.; PENG, J.; HU, N. H.; JIA, H. Q. Synthesis, crystal structure, and thermal property of a novel supramolecular assembly: (NH₄2810424)(CHNO) O-[H(V)O(2H)₄(10)28(2)], constructed from decavanadate and caffeine. **Journal of Chemical Crystallography**, v. 34, n. 8, p. 541-548, 2004.
- 96 SANCHEZ-LOMBARDO, I.; BARUAH, B.; ALVAREZ, S.; WERST, K. R.; SEGALINE, N. A.; LEVINGER, N. E.; CRANS, D. C. Size and shape trump charge in interactions of oxovanadates with self-assembled interfaces: application of continuous shape measure analysis to the decavanadate anion. **New Journal of Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 962-975, 2016.
- 97 BOŠNJKOVIĆ-PAVLOVIĆ, N.; PRÉVOST, J.; SPASOJEVIĆ-DE BIRÉ, A. Crystallographic Statistical Study of Decavanadate Anion Based-Structures: Toward a Prediction of Noncovalent Interactions. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 9, p. 3778-3789, 2011.
- 98 NAKAMURA, S.; OZEKI, T. Guest driven rearrangements of protonation and hydrogen bonding in decavanadate anions as their tetraalkylammonium salts. **Dalton Transactions**, n. 44, p. 6135-6140, 2008.
- 99 SÁNCHEZ-LARA, E.; PÉREZ-BENÍTEZ, A.; TREVIÑO, S.; MENDOZA, A.; MELÉNDEZ, F.; SÁNCHEZ-MORA, E.; BERNÈS, S.; GONZÁLEZ-VERGARA, E. Synthesis and 3D Network Architecture of 1- and 16-Hydrated Salts of 4-Dimethylaminopyridinium Decavanadate, (DMAPH)₆[V₁₀O₂₈]·nH₂O. **Crystals**, v. 6, n. 6, p. 65, 2016.
- 100 SARKAR, A.; PAL, S. Decavanadates with [Et(3)NH](+) and [Me(2)HN(CH(2))(2)NHMe(2)](2+): Variation in protonation state and self-assembly. **Polyhedron**, v. 27, n. 17, p. 3472-3476, 2008.

- 101 JOUFFRET, L.; RIVENET, M.; ABRAHAM, F. A new polymeric chain in the dihydrogendecavanadate(V)-decavanadate(V) $[\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4]_5[\text{V}_{10}\text{O}_{28}\text{H}_2](0.5)[\text{V}_{10}\text{O}_{28}](0.5)$ obtained by in situ synthesis of the organic cation. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 13, n. 1, p. 5-9, 2010.
- 102 YERRA, S.; TRIPURAMALLU, B. K.; DAS, S. K. Decavanadate-based discrete compound and coordination polymer: Synthesis, crystal structures, spectroscopy and nano-materials. **Polyhedron**, v. 81, p. 147-153, 2014.
- 103 HAYASHI, Y. Hetero and lacunary polyoxovanadate chemistry: Synthesis, reactivity and structural aspects. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 255, n. 19-20, p. 2270-2280, 2011.
- 104 LIVAGE, J. Hydrothermal Synthesis of Nanostructured Vanadium Oxides. **Materials**, v. 3, n. 8, p. 4175, 2010.
- 105 AURELIANO, M. Decavanadate contribution to vanadium biochemistry: In vitro and in vivo studies. **Inorganica Chimica Acta**, v. 420, p. 4-7, 2014.
- 106 SOARES, S. S.; GUTIERREZ-MERINO, C.; AURELIANO, M. Mitochondria as a target for decavanadate toxicity in *Sparus aurata* heart. **Aquat Toxicol**, v. 83, n. 1, p. 1-9, 2007.
- 107 FUKUDA, N.; YAMASE, T. In vitro antibacterial activity of vanadate and vanadyl compounds against *Streptococcus pneumoniae*. **Biol Pharm Bull**, v. 20, n. 8, p. 927-30, 1997.
- 108 RENNIE, G.; CHEN, A. C.; DHILLON, H.; VARDY, J.; DAMIAN, D. L. Nicotinamide and neurocognitive function. **Nutr Neurosci**, v. 18, n. 5, p. 193-200, 2015.
- 109 MACKAY, D.; HATHCOCK, J.; GUARNERI, E. Niacin: chemical forms, bioavailability, and health effects. **Nutr Rev**, v. 70, n. 6, p. 357-66, 2012.
- 110 WANG, J.-R.; YU, X.; ZHOU, C.; LIN, Y.; CHEN, C.; PAN, G.; MEI, X. Improving the dissolution and bioavailability of 6-mercaptopurine via co-crystallization with isonicotinamide. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 5, p. 1036-1039, 2015.
- 111 BÁTHORI, N. B.; LEMMERER, A.; VENTER, G. A.; BOURNE, S. A.; CAIRA, M. R. Pharmaceutical Co-crystals with Isonicotinamide—Vitamin B₃, Clofibric Acid, and Diclofenac—and Two Isonicotinamide Hydrates. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 1, p. 75-87, 2011.
- 112 EL QAIDI, S.; YANG, J.; ZHANG, J.-R.; METZGER, D. W.; BAI, G. The Vitamin B₆ Biosynthesis Pathway in *Streptococcus pneumoniae* Is Controlled by Pyridoxal 5'-Phosphate and the Transcription Factor PdxR and Has an Impact on Ear Infection. **Journal of Bacteriology**, v. 195, n. 10, p. 2187-2196, 2013.
- 113 DAKSHINAMURTI, K. Vitamins and their derivatives in the prevention and treatment of metabolic syndrome diseases (diabetes). **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 93, n. 5, p. 355-362, 2015.
- 114 BOWLING, F. G. Pyridoxine supply in human development. **Semin Cell Dev Biol**, v. 22, n. 6, p. 611-8, 2011.

- 115 ANICETO, C.; FATIBELLO, O. Flow injection spectrophotometric determination of vitamin B-6 (pyridoxine) in pharmaceutical formulations. **Quimica Nova**, v. 22, n. 6, p. 805-809, 1999.
- 116 DAS, S.; MAITI, S.; GHOSH, S. Synthesis of two biofriendly anionic surfactants (N-n-decanoyl-L-valine and N-n-decanoyl-L-leucine) and their mixed micellization with nonionic surfactant Mega-10 in Tris-buffer medium at pH 9. **RSC Advances**, v. 4, n. 24, p. 12275-12286, 2014.
- 117 RODRIGUEZ, C.; HUANG, F.; MILLERO, F. J. The partial molal volume and compressibility of Tris and Tris-HCl in water and 0.725 m NaCl as a function of temperature. **Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers**, v. 104, p. 41-51, 2015.
- 118 BLOUNT, Z. D. The unexhausted potential of E. coli. **eLife**, v. 4, p. e05826, 2015..
- 119 KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. Pathogenic Escherichia coli. **Nat Rev Microbiol**, v. 2, n. 2, p. 123-40, 2004.
- 120 LIM, J. Y.; YOON, J.; HOVDE, C. J. A brief overview of Escherichia coli O157:H7 and its plasmid O157. **J Microbiol Biotechnol**, v. 20, n. 1, p. 5-14, 2010.
- 121 WANG, D. X.; KUNG, H. H.; BARTEAU, M. A. Identification of vanadium species involved in sequential redox operation of VPO catalysts. **Applied Catalysis a-General**, v. 201, n. 2, p. 203-213, 2000.
- 122 SHELDRICK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Crystallographica. Section C, Structural Chemistry**, v. 71, n. Pt 1, p. 3-8, 2015.
- 123 SHELDRICK, G. A short history of SHELX. **Acta Crystallographica Section A**, v. 64, n. 1, p. 112-122, 2008.
- 124 STOLL, S.; SCHWEIGER, A. EasySpin, a comprehensive software package for spectral simulation and analysis in EPR. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 178, n. 1, p. 42-55, 2006.
- 125 GUO, H.-X.; YAO, Z.-L. Na₆(H₂O)₂₀(V₁₀O₂₈).4H₂O, a novel polyvanadate(V) with a three-dimensional framework. **Acta Crystallographica Section C**, v. 63, n. 7, p. i51-i53, 2007.
- 126 SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- 127 SHAPIRO, H. M. **Practical Flow Cytometry**. Wiley, 2005.
- 128 WANG, X.; LIU, H.-X.; XU, X.-X.; YOU, X.-Z. The crystal structure of the addition compound of decavanadate and guanidine. **Polyhedron**, v. 12, n. 1, p. 77-81, 1993.
- 129 COSTA PESSOA, J.; TERESA DUARTE, M.; D. GILLARD, R.; MADEIRA, C.; M. MATIAS, P.; TOMAZ, I. Preparation of [VO(sal-L-Trp)(H₂O)] (sal-L-Trp[space]=[space]N-salicylidene-L-tryptophanate) and characterisation of an unusual product obtained from its solutions in water-pyridine. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, n. 23, p. 4015-4020, 1998.

- 130 CORREIA, I.; AVECILLA, F.; MARCÃO, S.; COSTA PESSOA, J. Structural studies of decavanadate compounds with organic molecules and inorganic ions in their crystal packing. **Inorganica Chimica Acta**, v. 357, n. 15, p. 4476-4487, 2004.
- 131 HOU, W.; GUO, J.; WANG, Z.; XU, Y. Synthesis, structural characterization, and properties of two new polyoxovanadates based on decavanadate [V₁₀O₂₈]⁶⁻. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 66, n. 14, p. 2434-2443, 2013.
- 132 MAL, S. S.; TRÖPPNER, O.; IVANOVIĆ-BURMAZOVIĆ, I.; BURGER, P. Tetraalkylphosphonium Decavanadates: Synthesis, Structures, and Solution Properties. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2013, n. 10-11, p. 1960-1967, 2013.
- 133 LV, Y.-K.; JIANG, Z.-G.; GAN, L.-H.; LIU, M.-X.; FENG, Y.-L. Three novel organic-inorganic hybrid materials based on decaoxovanadates obtained from a new liquid phase reaction. **CrystEngComm**, v. 14, n. 1, p. 314-322, 2012.
- 134 WERY, A. S. J.; GUTIERREZ-ZORRILA, J. M.; LUQUE, A.; ROMAN, P.; MARTINEZ-RIPOLL, M. Influence of protonation on crystal packing and thermal behaviour of tert-butylammonium decavanadates. **Polyhedron**, v. 15, n. 24, p. 4555-4564, 1996.
- 135 PRASAD, K. D.; CHERUKUVADA, S.; GANDURI, R.; STEPHEN, L. D.; PERUMALLA, S.; GURU ROW, T. N. Differential Cocrystallization Behavior of Isomeric Pyridine Carboxamides toward Antitubercular Drug Pyrazinoic Acid. **Crystal Growth & Design**, v. 15, n. 2, p. 858-866, 2015.
- 136 PACIGOVA, S.; RAKOVSKY, E.; SIVAK, M.; ZAK, Z. Hexakis[3-(aminocarbonyl)pyridinium] decavanadate(V) dihydrate. **Acta Crystallographica Section C**, v. 63, n. 9, p. m419-m422, 2007.
- 137 LIGTENBARG, A. G. J.; HAGE, R.; FERINGA, B. L. Catalytic oxidations by vanadium complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 237, n. 1-2, p. 89-101,
- 138 BATTISTEL, E.; TASSINARI, R.; FORNAROLI, M.; BONOLDI, L. Oxidation of benzene by molecular oxygen catalysed by vanadium. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 202, n. 1-2, p. 107-115, 2003.
- 139 BACH, R. D.; SU, M.-D.; SCHLEGEL, H. B. Oxidation of Amines and Sulfides with Hydrogen Peroxide and Alkyl Hydrogen Peroxide. The Nature of the Oxygen-Transfer Step. **Journal of the American Chemical Society**, v. 116, n. 12, p. 5379-5391, 1994.
- 140 OMRI, I.; MHIRI, T.; GRAIA, M. A new monohydrogendecavanadate (V)-dihydrogendecavanadate (V) with dibutylammonium cations [C₈NH₂₀]⁹⁺[H₂V₁₀O₂₈]⁶⁻·2.13H₂O: Synthesis, crystal structure, vibrational and optical properties. **Journal of Molecular Structure**, v. 1108, p. 334-340, 2016.
- 141 BAKILER, M.; BOLUKBASI, O.; YILMAZ, A. An experimental and theoretical study of vibrational spectra of picolinamide, nicotinamide, and isonicotinamide. **Journal of Molecular Structure**, v. 826, n. 1, p. 6-16, 2007.
- 142 SMITH, B. C. **Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach**. Taylor & Francis, 1998.

- 143 RAMALINGAM, S.; PERIANDY, S.; GOVINDARAJAN, M.; MOHAN, S. FT-IR and FT-Raman vibrational spectra and molecular structure investigation of nicotinamide: A combined experimental and theoretical study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 75, n. 5, p. 1552-1558, 2010.
- 144 CASTRO, J. L.; ARENAS, J. F.; LOPEZ-RAMIREZ, M. R.; SOTO, J.; OTERO, J. C. Surface-enhanced Raman scattering of picolinamide, nicotinamide, and isonicotinamide: unusual carboxamide deprotonation under adsorption on silver nanoparticles. **J Colloid Interface Sci**, v. 396, p. 95-100, 2013.
- 145 FARRUGIA, L. WinGX and ORTEP for Windows: an update. **Journal of Applied Crystallography**, v. 45, n. 4, p. 849-854, 2012.
- 146 KEMPF, J. Y.; ROHMER, M. M.; POBLET, J. M.; BO, C.; BENARD, M. Relative basicities of the oxygen sites in [V10O28]6-. An analysis of the ab initio determined distributions of the electrostatic potential and of the Laplacian of charge density. **Journal of the American Chemical Society**, v. 114, n. 4, p. 1136-1146, 1992.
- 147 BOŠNJAKOVIĆ-PAVLOVIĆ, N.; SPASOJEVIĆ-DE BIRÉ, A.; TOMAZ, I.; BOUHMAIDA, N.; AVECILLA, F.; MIOČ, U. B.; PESSOA, J. C.; GHERMANI, N. E. Electronic Properties of a Cytosine Decavanadate: Toward a Better Understanding of Chemical and Biological Properties of Decavanadates. **Inorganic Chemistry**, v. 48, n. 20, p. 9742-9753, 2009.
- 148 TRACEY, A. S.; WILLSKY, G. R.; TAKEUCHI, E. S. **Vanadium: Chemistry, Biochemistry, Pharmacology and Practical Applications**. CRC Press, 2007.
- 149 YOTNOI, B.; YIMKLAN, S.; PRIOR, T. J.; RUJIWATRA, A. Microwave Assisted Crystal Growth of a New Organic—Decavanadate Assembly: [V10O27(OH)] · 2(C6N2H14) · (C6N2H13) · (C6N2H12) · 2H2O. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials**, v. 19, n. 3, p. 306, 2009.
- 150 YADAV, A. V.; SHETE, A. S.; DABKE, A. P.; KULKARNI, P. V.; SAKHARE, S. S. Co-crystals: a novel approach to modify physicochemical properties of active pharmaceutical ingredients. **Indian J Pharm Sci**, v. 71, n. 4, p. 359-70, 2009.
- 151 WANG, L.; TAN, B.; ZHANG, H.; DENG, Z. Pharmaceutical Cocrystals of Diflunisal with Nicotinamide or Isonicotinamide. **Organic Process Research & Development**, v. 17, n. 11, p. 1413-1418, 2013.
- 152 CRANS, D.; EHDE, P.; K. SHIN, P.; PETTERSSON, L. **Structural and Kinetic Characterization of Simple Complexes as Models for Vanadate-Protein Interactions**. 1991.
- 153 STEED, J. W.; ATWOOD, J. L. **Supramolecular Chemistry**. Wiley, 2009.
- 154 JUHASZ, M.; KITAHARA, Y.; TAKAHASHI, S.; FUJII, T. Thermal stability of vitamin C: thermogravimetric analysis and use of total ion monitoring chromatograms. **J Pharm Biomed Anal**, v. 59, p. 190-3, 2012.
- 155 BALOCH, M. K.; KHURRAM, M. J. Z.; DURRANI, G. F. Application of different methods for the thermogravimetric analysis of polyethylene samples. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 120, n. 6, p. 3511-3518, 2011.

- 156 OMRI, I.; MHIRI, T.; GRAIA, M. Novel decavanadate cluster complex (Hlmz)₁₂(V₁₀O₂₈)₂·3H₂O: Synthesis, characterization, crystal structure, optical and thermal properties. **Journal of Molecular Structure**, v. 1098, p. 324-331, 2015.
- 157 ATAC, A.; KARABACAK, M.; KOSE, E.; KARACA, C. Spectroscopic (NMR, UV, FT-IR and FT-Raman) analysis and theoretical investigation of nicotinamide N-oxide with density functional theory. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 83, n. 1, p. 250-258, 2011.
- 158 SKORUPSKA, E. A.; NAZARSKI, R. B.; CIECHAŃSKA, M.; JÓŹWIAK, A.; KŁYS, A. Dynamic ¹H NMR spectroscopic study of hindered internal rotation in selected N,N-dialkyl isonicotinamides: an experimental and DFT analysis. **Tetrahedron**, v. 69, n. 38, p. 8147-8154, 2013.
- 159 HOWARTH, O. W. Vanadium-51 NMR. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, v. 22, n. 5, p. 453-485, 1990.
- 160 AURELIANO, M.; GÂNDARA, R. M. C. Decavanadate effects in biological systems. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 99, n. 5, p. 979-985, 2005.
- 161 HOWARTH, O. W.; JARROLD, M. Protonation of the decavanadate(6-) ion: a vanadium-51 nuclear magnetic resonance study. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, n. 5, p. 503-506, 1978.
- 162 ZHETCHEVA, V. D. K.; PAVLOVA, L. P. Synthesis and spectral characterization of a decavanadate/chitosan complex. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 35, n. 2, p. 215-223, 2011.
- 163 SCHROETTER-DIRKS, S.; BOUGEARD, D. Vibrational spectra of tris(hydroxymethyl)aminomethane hydrogenhalides TRISH+X-, ((HOHC)-C-2)(3)C-NH₃+center dot X-(X = F, Cl, Br, I). **Journal of Molecular Structure**, v. 661, p. 109-119, 2003.
- 164 SRIVASTAVA, M.; RANI, P.; SINGH, N. P.; YADAV, R. A. Experimental and theoretical studies of vibrational spectrum and molecular structure and related properties of pyridoxine (vitamin B6). **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v. 120, p. 274-86, 2014.
- 165 WESTRUP, K. C. M.; GREGORIO, T.; STINGHEN, D.; REIS, D. M.; HITCHCOCK, P. B.; RIBEIRO, R. R.; BARISON, A.; BACK, D. F.; DE SA, E. L.; NUNES, G. G.; SOARES, J. F. Non-oxo vanadium(IV) alkoxide chemistry: solid state structures, aggregation equilibria and thermochromic behaviour in solution. **Dalton Transactions**, v. 40, n. 13, p. 3198-3210, 2011.
- 166 FROST, R. L.; ERICKSON, K. L.; WEIER, M. L.; CARMODY, O. Raman and infrared spectroscopy of selected vanadates. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v. 61, n. 5, p. 829-34, 2005.
- 167 KALIVA, M.; GIANNADAKI, T.; SALIFOGLU, A.; RAPTOPOULOU, C. P.; TERZIS, A. A New Dinuclear Vanadium(V)-Citrate Complex from Aqueous Solutions. Synthetic, Structural, Spectroscopic, and pH-Dependent Studies in Relevance to Aqueous Vanadium(V)-Citrate Speciation. **Inorganic Chemistry**, v. 41, n. 15, p. 3850-3858, 2002.

- 168 MONDAL, S.; MUKHERJEE, M.; DHARA, K.; GHOSH, S.; RATHA, J.; BANERJEE, P.; MUKHERJEE, A. K. Supramolecular Architecture in an Oxovanadium(V)-Schiff Base Complex: Synthesis, Ab initio Structure Determination from X-ray Powder Diffraction, DNA Binding and Cleavage Activity. **Crystal Growth & Design**, v. 7, n. 9, p. 1716-1721, 2007.
- 169 SABIROV, V. K. B., A. S.; STRUCHKOV, YU. T.; AZIZOV, M. A.; SHABILALOV, A. A.; PULATOV, A. S. **Koord. Khim.**, v. 10, p. 275, 1984.
- 170 NUNES, G. G.; REIS, D. M.; CAMARGO, P. H. C.; HITCHCOCK, P. B.; HÖRNER, M.; MATOS, R. M.; MANGRICH, A. S.; SÁ, E. L. D.; LEIGH, G. J.; SOARES, J. F. New titanium(IV) and vanadium(IV) haloalkoxides: synthetic route and structural characterisation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, p. 922-929, 2003.
- 171 BHAT, I. K.; SHERIGARA, B. S. Kinetics of oxidation of pyridoxine by anodically generated manganese(III) in aqueous acetic acid medium. **Transition Metal Chemistry**, v. 19, n. 2, p. 178-182, 1994.
- 172 ASHOK, M.; PRASAD, A. V. S. S.; REDDY, P. M.; RAVINDER, V. Ru(III)-catalyzed oxidation of pyridoxine and albuterol in pharmaceuticals. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 72, n. 1, p. 204-208, 2009.
- 173 LEWIS, N. A.; LIU, F.; SEYMOUR, L.; MAGNUSEN, A.; ERVES, T. R.; ARCA, J. F.; BECKFORD, F. A.; VENKATRAMAN, R.; GONZÁLEZ-SARRÍAS, A.; FRONCZEK, F. R.; VANDERVEER, D. G.; SEERAM, N. P.; LIU, A.; JARRETT, W. L.; HOLDER, A. A. Synthesis, Characterisation, and Preliminary In Vitro Studies of Vanadium(IV) Complexes with a Schiff Base and Thiosemicarbazones as Mixed Ligands. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2012, n. 4, p. 664-677, 2012.
- 174 NUNES, G. G.; BONATTO, A. C.; DE ALBUQUERQUE, C. G.; BARISON, A.; RIBEIRO, R. R.; BACK, D. F.; ANDRADE, A. V. C.; DE SA, E. L.; PEDROSA, F. D.; SOARES, J. F.; DE SOUZA, E. M. Synthesis, characterization and chemoprotective activity of polyoxovanadates against DNA alkylation. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 108, p. 36-46, 2012.
- 175 KHAN, A. R.; CRANS, D. C.; PAULIUKAITE, R.; NORKUS, E. Spectrometric and electrochemical investigation of vanadium(V) and vanadium(IV) tartrate complexes in solution. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, p. 895-904, 2006.
- 176 NECHAY, B. R.; NANNINGA, L. B.; NECHAY, P. S. E. Vanadyl (IV) and vanadate (V) binding to selected endogenous phosphate, carboxyl, and amino ligands; calculations of cellular vanadium species distribution. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 251, n. 1, p. 128-138, 1986.
- 177 **Vanadium in Biological Systems**. 1. Springer Netherlands, 1990.
- 178 ROUT, L.; NATH, P.; PUNNIYAMURTHY, T. Vanadium-Catalyzed Selective Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones with tert-Butyl Hydroperoxide. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 349, n. 6, p. 846-848, 2007.
- 179 VELUSAMY, S.; PUNNIYAMURTHY, T. Novel Vanadium-Catalyzed Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones under Atmospheric Oxygen. **Organic Letters**, v. 6, n. 2, p. 217-219, 2004.

- 180 POSTAL, K.; MALUF, D. F.; VALDAMERI, G.; RUDIGER, A. L.; HUGHES, D. L.; DE SA, E. L.; RIBEIRO, R. R.; DE SOUZA, E. M.; SOARES, J. F.; NUNES, G. G. Chemoprotective activity of mixed valence polyoxovanadates against diethylsulphate in *E. coli* cultures: insights from solution speciation studies. **RSC Advances**, v. 6, n. 115, p. 114955-114968, 2016.
- 181 SMALL, P.; BLANKENHORN, D.; WELTY, D.; ZINSER, E.; SLONCZEWSKI, J. L. Acid and base resistance in *Escherichia coli* and *Shigella flexneri*: role of *rpoS* and growth pH. **J Bacteriol**, v. 176, n. 6, p. 1729-37, 1994.
- 182 KITKO, R. D.; WILKS, J. C.; GARDUQUE, G. M.; SLONCZEWSKI, J. L. Osmolytes Contribute to pH Homeostasis of *Escherichia coli*. **PLoS ONE**, v. 5, n. 4, p. e10078, 2010.
- 183 PRESSER, K. A.; RATKOWSKY, D. A.; ROSS, T. Modelling the growth rate of *Escherichia coli* as a function of pH and lactic acid concentration. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 6, p. 2355-2360, 1997.
- 184 BRITTAİN, H. G. Cocrystal systems of pharmaceutical interest: 2007-2008. **Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol**, v. 35, p. 373-90, 2010.
- 185 AMBRIZ-AVI, #XF1; A, V.; #XF3; NICA; CONTRERAS-GARDU, #XF1; O, J. A.; PEDRAZA-REYES, M. Applications of Flow Cytometry to Characterize Bacterial Physiological Responses. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 14, 2014.
- 186 BASIJI, D. A.; ORTYN, W. E.; LIANG, L.; VENKATACHALAM, V.; MORRISSEY, P. Cellular Image Analysis and Imaging by Flow Cytometry. **Clinics in laboratory medicine**, v. 27, n. 3, p. 653-viii, 2007.
- 187 SHAPIRO, H. M. Microbial analysis at the single-cell level: tasks and techniques. **Journal of Microbiological Methods**, v. 42, n. 1, p. 3-16, 2000.
- 188 RICCARDI, C.; NICOLETTI, I. Analysis of apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. **Nat Protoc**, v. 1, n. 3, p. 1458-61, 2006.
- 189 ERUSLANOV, E.; KUSMARTSEV, S. Identification of ROS using oxidized DCFDA and flow-cytometry. **Methods Mol Biol**, v. 594, p. 57-72, 2010.
- 190 PERRY, S. W.; NORMAN, J. P.; BARBIERI, J.; BROWN, E. B.; GELBARD, H. A. Mitochondrial membrane potential probes and the proton gradient: a practical usage guide. **Biotechniques**, v. 50, n. 2, p. 98-115, 2011.
- 191 ZHANG, Z.-M.; DUAN, X.; YAO, S.; WANG, Z.; LIN, Z.; LI, Y.-G.; LONG, L.-S.; WANG, E.-B.; LIN, W. Cation-mediated optical resolution and anticancer activity of chiral polyoxometalates built from entirely achiral building blocks. **Chemical Science**, v. 7, n. 7, p. 4220-4229, 2016.
- 192 GABAS, I. M.; STEPIEN, G.; MOROS, M.; MITCHELL, S. G.; DE LA FUENTE, J. M. In vitro cell cytotoxicity profile and morphological response to polyoxometalate-stabilised gold nanoparticles. **New Journal of Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 1039-1047, 2016.

- 193 ZHAI, F.; WANG, X.; LI, D.; ZHANG, H.; LI, R.; SONG, L. Synthesis and biological evaluation of decavanadate $\text{Na}_4\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6\text{V}_{10}\text{O}_{28} \cdot 18\text{H}_2\text{O}$. **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 63, n. 1, p. 51-55, 2009.
- 194 KADENBACH, B. Intrinsic and extrinsic uncoupling of oxidative phosphorylation. **Biochim Biophys Acta**, v. 1604, n. 2, p. 77-94, 2003.
- 195 BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Biochemistry, Fifth Edition**. W.H. Freeman, 2002.
- 196 GAHAN, P. B. Methods in molecular biology volume 263 flow cytometry protocols T. H. Hawley and R. G. Hawley (eds), Humana Press, 434 pp., ISBN 1-588-29-234-7 (hardback); ISBN 1-588-29-235-5 (paperback) (2004). **Cell Biochemistry and Function**, v. 23, n. 4, p. 291-291, 2005.
- 197 BARUAH, B.; SWAFFORD, L. A.; CRANS, D. C.; LEVINGER, N. E. Do probe molecules influence water in confinement? **J Phys Chem B**, v. 112, n. 33, p. 10158-64, 2008.
- 198 TIAGO, T.; AURELIANO, M.; MOURA, J. J. G. Decavanadate as a biochemical tool in the elucidation of muscle contraction regulation. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98, n. 11, p. 1902-1910, 2004.
- 199 PERELMAN, A.; WACHTEL, C.; COHEN, M.; HAUPT, S.; SHAPIRO, H.; TZUR, A. JC-1: alternative excitation wavelengths facilitate mitochondrial membrane potential cytometry. **Cell Death & Disease**, v. 3, n. 11, p. e430, 2012.
- 200 DUBIKOVSKAYA, E. <http://lcbim.epfl.ch/research>. Acesso em 15/03/2017.
- 201 AL-QATATI, A.; FONTES, F. L.; BARISAS, B. G.; ZHANG, D.; ROESS, D. A.; CRANS, D. C. Raft localization of Type I Fc γ receptor and degranulation of RBL-2H3 cells exposed to decavanadate, a structural model for V_{20}O_5 . **Dalton Transactions**, v. 42, n. 33, p. 11912-11920, 2013.
- 202 STRAHL, H.; HAMOEN, L. W. Membrane potential is important for bacterial cell division. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 107, n. 27, p. 12281-6, 2010.
- 203 TUMIR, L. M.; RADIC STOJKOVIC, M.; PIANTANIDA, I. Come-back of phenanthridine and phenanthridinium derivatives in the 21st century. **Beilstein J Org Chem**, v. 10, p. 2930-54, 2014.
- 204 SOARES, S. S.; MARTINS, H.; DUARTE, R. O.; MOURA, J. J.; COUCELO, J.; GUTIERREZ-MERINO, C.; AURELIANO, M. Vanadium distribution, lipid peroxidation and oxidative stress markers upon decavanadate in vivo administration. **J Inorg Biochem**, v. 101, n. 1, p. 80-8, 2007.
- 205 CIBIOR, A.; LLOPIS, J.; HOLDER, A. A.; ALTAMIRANO-LOZANO, M. Vanadium Toxicological Potential versus Its Pharmacological Activity: New Developments and Research. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 2, 2016.
- 206 ZHENG, W.; YANG, L.; LIU, Y.; QIN, X.; ZHOU, Y.; ZHOU, Y.; LIU, J. Mo polyoxometalate nanoparticles inhibit tumor growth and vascular endothelial growth

factor induced angiogenesis. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 15, n. 3, p. 035010, 2014.

- 207 NEBRASKA REDOX BIOLOGY CENTER EDUCATIONAL PORTAL
http://genomics.unl.edu/RBC_EDU/hp.html. Acesso em 15/03/2017.,
- 208 PEZZA, R. J.; VILLARREAL, M. A.; MONTICH, G. G.; ARGARAÑA, C. E. Vanadate inhibits the ATPase activity and DNA binding capability of bacterial MutS. A structural model for the vanadate–MutS interaction at the Walker A motif. **Nucleic Acids Research**, Oxford, UK, v. 30, n. 21, p. 4700-4708, 2002.

ANEXO 1

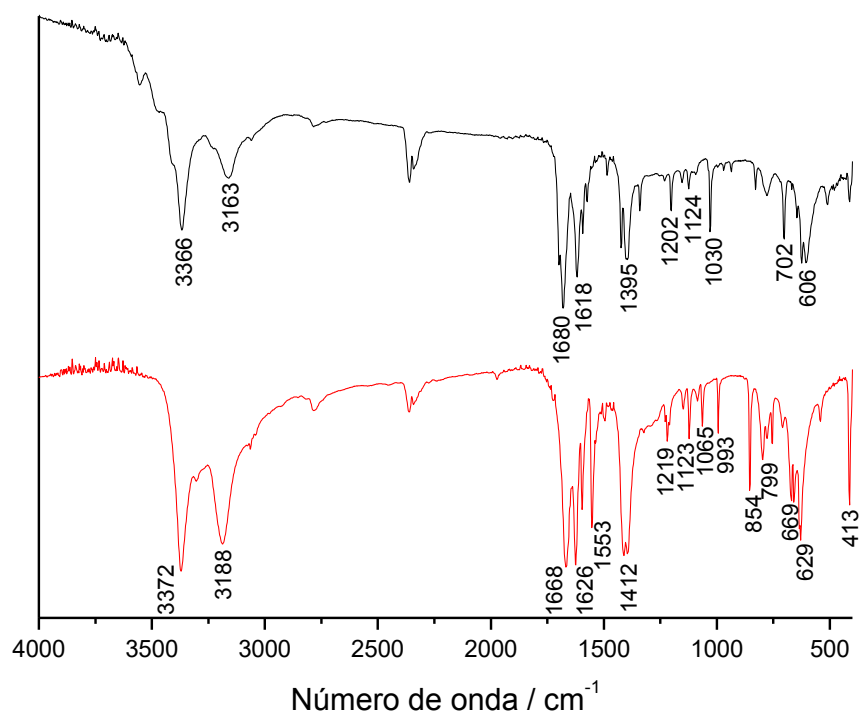


FIGURA A1 Espectros de absorção no infravermelho da nicotinamida (em preto) e da isonicotinamida (em vermelho) registrados em pastilhas de KBr.

ANEXO 2

TABELA A1. DADOS CRISTALOGRAFICOS E REFINAMENTO DA ESTRUTURA PARA $[(C_5H_4NH-CONH_2)_4][H_2V_{10}O_{28}](C_5H_4N-CONH_2)_2$ (**IsoV₁₀**)

Código de identificação	JMM01_85as1
Fórmula elementar	4(C ₆ H ₇ N ₂ O), H ₂ O ₂₈ V ₁₀ , 2(C ₆ H ₆ N ₂ O)
Massa/mol (g/mol)	1696,21
Temperatura	100(2) K
Comprimento de onda	0,71073 Å
Sistema cristalino, grupo espacial	Triclínico, P-1
Dimensões da célula unitária	a = 9,3942(9) Å α = 82,984(4)° b = 10,2468(9) Å β = 81,607(4)° c = 14,0204(13) Å γ = 88,817(4)°
Volume	1325,2(2) Å ³
Z, densidade calculada	1, 2,126 mg/m ³
F(000)	844
Coeficiente de absorção	1,795 mm ⁻¹
Cor do cristal, formato	bloco amarelo
Tamanho do cristal	0,129 x 0,091 x 0,034 mm
No difratômetro:	
Faixa de coleta de dados	3,6 a 27,5 °
Índices limitantes	-12<=h<=12, -13<=k<=13, -18<=l<=18
Completeness para θ	25,2 °, 99,7 %
Correção de absorção	Semi-empírica de equivalentes
Transmissão máxima e mínima	0,8457 e 0,6924
Reflexões coletadas / únicas	57076 / 6081 [R(int) = 0,092]
Número de reflexões "observadas" (I > 2σ _I)	4752
Estrutura determinada por:	Métodos diretos, em SHELXS
Refinamento:	Matriz integral mínimos quadrados em F ²
Dados / restrições / parâmetros	6081 / 2 / 499
Qualidade de ajuste em F ²	1,032
R (dados "observados")	R ₁ = 0,035, wR ₂ = 0,072
R (todos os dados)	R ₁ = 0,056, wR ₂ = 0,079
Reflexões ponderadas:	w = [σ ² (F _o ²)+(0,0299*P) ² +1,9201*P] ⁻¹ onde P = (F _o ² +2F _c ²)/3
Coeficiente de extinção	n/a
Maior diferença pico e buraco	0,48 e -0,48 e, Å ⁻³
Localização do pico de maior diferença	próximo ao átomo C(10)

TABELA A2. COORDENADAS ATÔMICAS ($\times 10^5$) E PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ISOTRÓPICO EQUIVALENTES ($\text{\AA}^2 \times 10^4$). $U(\text{eq})$ É DEFINIDO COMO UM TERÇO DO TRAÇO DO TENSOR U_{ij} ORTOGONALIZADO.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
V(1)	51713(4)	31516(4)	37523(3)	74.9(10)
V(2)	59998(4)	60753(4)	31715(3)	71.6(10)
V(3)	25497(5)	24957(4)	52966(3)	83.8(10)
V(4)	33806(4)	54089(4)	47548(3)	62.2(10)
V(5)	44462(5)	82884(4)	42272(3)	80.3(10)
O(1)	57074(19)	28668(17)	26556(13)	104(4)
O(2)	65613(19)	58034(18)	20793(13)	113(4)
O(3)	60001(18)	18014(17)	44338(13)	83(4)
O(4)	76863(19)	68551(18)	34535(13)	95(4)
O(5)	33494(18)	24830(17)	40298(13)	88(4)
O(6)	43196(18)	49556(17)	35197(13)	78(4)
O(7)	50401(18)	75603(17)	30351(13)	93(4)
O(8)	37281(19)	11913(17)	57504(13)	96(4)
O(9)	45716(18)	37528(17)	52504(13)	81(4)
O(10)	10331(19)	17757(18)	53636(14)	125(4)
O(11)	19631(18)	43991(17)	48610(13)	85(4)
O(12)	28271(18)	69270(17)	43688(13)	94(4)
O(13)	36090(20)	95758(18)	38476(13)	125(4)
O(14)	32423(18)	56492(17)	61222(12)	77(4)
C(1)	30460(30)	46710(30)	8392(19)	112(5)
C(2)	16700(30)	44160(20)	15464(19)	95(5)
C(3)	15990(30)	44860(30)	25310(20)	112(5)
C(4)	2790(30)	43450(30)	31120(20)	125(5)
C(5)	-8650(30)	40300(30)	17820(20)	110(5)
C(6)	4220(30)	41670(20)	11690(20)	105(5)
N(1)	42630(30)	44880(30)	11980(20)	229(6)
N(2)	-9090(20)	41240(20)	27305(17)	105(4)
O(1A)	29600(20)	50690(20)	-115(14)	200(5)
C(7)	-22590(30)	88200(30)	84660(20)	119(5)
C(8)	-8500(30)	90210(20)	77819(19)	103(5)
C(9)	3620(30)	93040(30)	81860(20)	136(6)
C(10)	16920(30)	93860(30)	76150(20)	144(6)
C(11)	6550(30)	89590(30)	62630(20)	126(5)
C(12)	-7050(30)	88750(30)	68040(20)	121(5)
N(3)	-34530(30)	88390(30)	80660(20)	170(5)
N(4)	17950(30)	91950(20)	66819(18)	134(5)
O(2A)	-22200(20)	86230(20)	93420(14)	185(4)
C(13)	138430(30)	82350(30)	2710(20)	137(6)
C(14)	124490(30)	79650(30)	9630(20)	114(5)
C(15)	123630(30)	79080(30)	19610(20)	134(6)
C(16)	110430(30)	76530(30)	25330(20)	130(5)
C(17)	99240(30)	75120(30)	11910(20)	133(5)
C(18)	112070(30)	77620(30)	5720(20)	128(5)

N(5)	150500(30)	80940(30)	6720(20)	238(6)
N(6)	98480(20)	74610(20)	21544(16)	113(5)
O(3A)	138080(20)	85680(20)	-5933(14)	188(4)

TABELA A3. DIMENSÕES MOLECULARES. OS COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO ESTÃO EM ÂNGSTROMS, ÂNGULOS EM GRAUS. E.S.DS ESTÃO EM PARÊNTESES.

V(1)-O(1)	1,6065(18)	O(14)-V(2)#1	2,0824(18)
V(1)-O(3)	1,8118(18)	C(1)-O(1A)	1,226(3)
V(1)-O(5)	1,8272(17)	C(1)-N(1)	1,316(4)
V(1)-O(14)#1	1,9918(17)	C(1)-C(2)	1,517(3)
V(1)-O(6)	2,0080(18)	C(2)-C(3)	1,383(4)
V(1)-O(9)	2,2506(18)	C(2)-C(6)	1,394(4)
V(1)-V(3)	3,0595(6)	C(3)-C(4)	1,380(4)
V(1)-V(2)	3,0919(6)	C(3)-H(3)	0,88(4)
V(1)-V(5)#1	3,0959(7)	C(4)-N(2)	1,341(3)
V(2)-O(2)	1,6010(19)	C(4)-H(4)	0,96(3)
V(2)-O(7)	1,7571(18)	C(5)-N(2)	1,340(4)
V(2)-O(4)	1,9019(18)	C(5)-C(6)	1,376(4)
V(2)-O(6)	1,9388(17)	C(5)-H(5)	0,97(3)
V(2)-O(14)#1	2,0824(18)	C(6)-H(6)	0,95(3)
V(2)-O(9)#1	2,2268(18)	N(1)-H(1N1)	0,84(4)
V(2)-V(5)	3,0848(6)	N(1)-H(2N1)	0,73(4)
V(2)-V(4)	3,0908(6)	N(2)-H(1N2)	0,856(18)
V(3)-O(10)	1,6034(18)	C(7)-O(2A)	1,226(3)
V(3)-O(5)	1,8262(18)	C(7)-N(3)	1,323(4)
V(3)-O(8)	1,8312(18)	C(7)-C(8)	1,519(3)
V(3)-O(4)#1	1,9307(19)	C(8)-C(12)	1,384(4)
V(3)-O(11)	2,0599(18)	C(8)-C(9)	1,394(4)
V(3)-O(9)	2,3057(17)	C(9)-C(10)	1,380(4)

V(3)-V(5)#1	3,0628(7)	C(9)-H(9)	0,93(3)
V(3)-V(4)	3,0767(6)	C(10)-N(4)	1,336(4)
V(4)-O(12)	1,6811(18)	C(10)-H(10)	0,94(4)
V(4)-O(11)	1,6814(17)	C(11)-N(4)	1,334(4)
V(4)-O(6)	1,9303(18)	C(11)-C(12)	1,386(4)
V(4)-O(14)	1,9477(18)	C(11)-H(11)	0,91(3)
V(4)-O(9)	2,1153(18)	C(12)-H(12)	0,94(3)
V(4)-O(9)#1	2,1216(17)	N(3)-H(1N3)	0,79(4)
V(4)-V(5)	3,1028(6)	N(3)-H(2N3)	0,78(4)
V(5)-O(13)	1,5969(18)	N(4)-H(1N4)	0,77(4)
V(5)-O(8)#1	1,8123(18)	C(13)-O(3A)	1,223(3)
V(5)-O(3)#1	1,8542(18)	C(13)-N(5)	1,335(4)
V(5)-O(7)	1,9174(19)	C(13)-C(14)	1,520(4)
V(5)-O(12)	2,0568(18)	C(14)-C(15)	1,385(4)
V(5)-O(9)#1	2,3465(18)	C(14)-C(18)	1,390(4)
V(5)-V(3)#1	3,0628(7)	C(15)-C(16)	1,385(4)
V(5)-V(1)#1	3,0959(7)	C(15)-H(15)	0,83(3)
O(3)-V(5)#1	1,8542(18)	C(16)-N(6)	1,338(3)
O(4)-V(3)#1	1,9307(19)	C(16)-H(16)	0,94(3)
O(4)-H(1O4)	0,83(2)	C(17)-N(6)	1,337(4)
O(8)-V(5)#1	1,8123(18)	C(17)-C(18)	1,387(4)
O(9)-V(4)#1	2,1216(17)	C(17)-H(17)	0,96(3)
O(9)-V(2)#1	2,2268(18)	C(18)-H(18)	0,94(3)
O(9)-V(5)#1	2,3465(18)	N(5)-H(1N5)	0,81(4)
O(14)-V(1)#1	1,9918(17)	N(5)-H(2N5)	0,79(4)
O(1)-V(1)-O(3)	101,31(9)	V(4)#1-O(9)-V(2)#1	90,56(7)
O(1)-V(1)-O(5)	104,39(9)	V(4)-O(9)-V(1)	93,37(7)
O(3)-V(1)-O(5)	95,47(8)	V(4)#1-O(9)-V(1)	93,06(7)

O(1)-V(1)-O(14)#1	97,78(8)	V(2)#1-O(9)-V(1)	168,69(9)
O(3)-V(1)-O(14)#1	90,84(8)	V(4)-O(9)-V(3)	88,09(6)
O(5)-V(1)-O(14)#1	155,21(8)	V(4)#1-O(9)-V(3)	170,01(9)
O(1)-V(1)-O(6)	100,66(8)	V(2)#1-O(9)-V(3)	90,24(6)
O(3)-V(1)-O(6)	155,76(8)	V(1)-O(9)-V(3)	84,36(6)
O(5)-V(1)-O(6)	88,86(7)	V(4)-O(9)-V(5)#1	170,38(9)
O(14)#1-V(1)-O(6)	76,14(7)	V(4)#1-O(9)-V(5)#1	87,82(6)
O(1)-V(1)-O(9)	173,64(8)	V(2)#1-O(9)-V(5)#1	84,79(6)
O(3)-V(1)-O(9)	81,27(7)	V(1)-O(9)-V(5)#1	84,64(6)
O(5)-V(1)-O(9)	81,02(7)	V(3)-O(9)-V(5)#1	82,35(6)
O(14)#1-V(1)-O(9)	76,28(7)	V(4)-O(11)-V(3)	110,23(9)
O(6)-V(1)-O(9)	75,85(7)	V(4)-O(12)-V(5)	111,82(9)
O(2)-V(2)-O(7)	103,91(9)	V(4)-O(14)-V(1)#1	107,36(8)
O(2)-V(2)-O(4)	99,06(9)	V(4)-O(14)-V(2)#1	106,85(8)
O(7)-V(2)-O(4)	95,06(8)	V(1)#1-O(14)-V(2)#1	98,71(7)
O(2)-V(2)-O(6)	102,57(8)	O(1A)-C(1)-N(1)	124,4(3)
O(7)-V(2)-O(6)	95,84(8)	O(1A)-C(1)-C(2)	118,8(2)
O(4)-V(2)-O(6)	152,60(8)	N(1)-C(1)-C(2)	116,8(2)
O(2)-V(2)-O(14)#1	97,90(8)	C(3)-C(2)-C(6)	119,5(2)
O(7)-V(2)-O(14)#1	157,88(8)	C(3)-C(2)-C(1)	122,6(2)
O(4)-V(2)-O(14)#1	85,03(7)	C(6)-C(2)-C(1)	117,8(2)
O(6)-V(2)-O(14)#1	75,57(7)	C(4)-C(3)-C(2)	118,8(2)
O(2)-V(2)-O(9)#1	172,31(8)	C(4)-C(3)-H(3)	118(2)
O(7)-V(2)-O(9)#1	83,55(7)	C(2)-C(3)-H(3)	123(2)
O(4)-V(2)-O(9)#1	78,19(7)	N(2)-C(4)-C(3)	120,6(3)
O(6)-V(2)-O(9)#1	78,17(7)	N(2)-C(4)-H(4)	119,4(17)
O(14)#1-V(2)-O(9)#1	74,79(7)	C(3)-C(4)-H(4)	119,9(17)
O(10)-V(3)-O(5)	103,82(9)	N(2)-C(5)-C(6)	120,1(2)
O(10)-V(3)-O(8)	103,77(9)	N(2)-C(5)-H(5)	115,9(18)

O(5)-V(3)-O(8)	93,95(8)	C(6)-C(5)-H(5)	124,0(18)
O(10)-V(3)-O(4)#1	100,12(9)	C(5)-C(6)-C(2)	119,2(3)
O(5)-V(3)-O(4)#1	154,21(8)	C(5)-C(6)-H(6)	121,3(18)
O(8)-V(3)-O(4)#1	89,51(8)	C(2)-C(6)-H(6)	119,5(18)
O(10)-V(3)-O(11)	99,82(8)	C(1)-N(1)-H(1N1)	121(2)
O(5)-V(3)-O(11)	84,98(7)	C(1)-N(1)-H(2N1)	122(3)
O(8)-V(3)-O(11)	155,93(8)	H(1N1)-N(1)-H(2N1)	117(4)
O(4)#1-V(3)-O(11)	81,62(7)	C(5)-N(2)-C(4)	121,7(2)
O(10)-V(3)-O(9)	173,04(8)	C(5)-N(2)-H(1N2)	122(2)
O(5)-V(3)-O(9)	79,52(7)	C(4)-N(2)-H(1N2)	116(2)
O(8)-V(3)-O(9)	81,92(7)	O(2A)-C(7)-N(3)	124,3(3)
O(4)#1-V(3)-O(9)	75,68(7)	O(2A)-C(7)-C(8)	118,6(2)
O(11)-V(3)-O(9)	74,22(7)	N(3)-C(7)-C(8)	117,1(2)
O(12)-V(4)-O(11)	107,26(9)	C(12)-C(8)-C(9)	119,2(2)
O(12)-V(4)-O(6)	97,92(8)	C(12)-C(8)-C(7)	123,5(2)
O(11)-V(4)-O(6)	96,94(8)	C(9)-C(8)-C(7)	117,2(2)
O(12)-V(4)-O(14)	96,68(8)	C(10)-C(9)-C(8)	119,7(3)
O(11)-V(4)-O(14)	97,25(8)	C(10)-C(9)-H(9)	120,8(19)
O(6)-V(4)-O(14)	155,60(7)	C(8)-C(9)-H(9)	119,5(19)
O(12)-V(4)-O(9)	165,33(8)	N(4)-C(10)-C(9)	119,3(3)
O(11)-V(4)-O(9)	87,38(8)	N(4)-C(10)-H(10)	115(2)
O(6)-V(4)-O(9)	80,75(7)	C(9)-C(10)-H(10)	126(2)
O(14)-V(4)-O(9)	80,18(7)	N(4)-C(11)-C(12)	120,1(3)
O(12)-V(4)-O(9)#1	87,06(8)	N(4)-C(11)-H(11)	117,9(18)
O(11)-V(4)-O(9)#1	165,67(8)	C(12)-C(11)-H(11)	122,0(18)
O(6)-V(4)-O(9)#1	81,01(7)	C(8)-C(12)-C(11)	118,9(3)
O(14)-V(4)-O(9)#1	80,33(7)	C(8)-C(12)-H(12)	121(2)
O(9)-V(4)-O(9)#1	78,29(7)	C(11)-C(12)-H(12)	120(2)
O(13)-V(5)-O(8)#1	105,85(9)	C(7)-N(3)-H(1N3)	115(3)

O(13)-V(5)-O(3)#1	103,18(9)	C(7)-N(3)-H(2N3)	120(3)
O(8)#1-V(5)-O(3)#1	92,17(8)	H(1N3)-N(3)-H(2N3)	125(4)
O(13)-V(5)-O(7)	100,88(9)	C(11)-N(4)-C(10)	122,8(2)
O(8)#1-V(5)-O(7)	90,68(8)	C(11)-N(4)-H(1N4)	119(3)
O(3)#1-V(5)-O(7)	153,97(8)	C(10)-N(4)-H(1N4)	118(3)
O(13)-V(5)-O(12)	99,64(8)	O(3A)-C(13)-N(5)	124,2(3)
O(8)#1-V(5)-O(12)	154,42(8)	O(3A)-C(13)-C(14)	119,9(2)
O(3)#1-V(5)-O(12)	83,94(7)	N(5)-C(13)-C(14)	115,9(3)
O(7)-V(5)-O(12)	82,40(7)	C(15)-C(14)-C(18)	118,6(2)
O(13)-V(5)-O(9)#1	172,80(8)	C(15)-C(14)-C(13)	123,1(2)
O(8)#1-V(5)-O(9)#1	81,16(7)	C(18)-C(14)-C(13)	118,3(2)
O(3)#1-V(5)-O(9)#1	77,83(7)	C(14)-C(15)-C(16)	118,9(3)
O(7)-V(5)-O(9)#1	77,06(7)	C(14)-C(15)-H(15)	123(2)
O(12)-V(5)-O(9)#1	73,30(7)	C(16)-C(15)-H(15)	118(2)
V(1)-O(3)-V(5)#1	115,23(9)	N(6)-C(16)-C(15)	122,4(3)
V(2)-O(4)-V(3)#1	113,89(9)	N(6)-C(16)-H(16)	117(2)
V(2)-O(4)-H(1O4)	122(4)	C(15)-C(16)-H(16)	120(2)
V(3)#1-O(4)-H(1O4)	124(4)	N(6)-C(17)-C(18)	121,9(3)
V(3)-O(5)-V(1)	113,74(9)	N(6)-C(17)-H(17)	119,1(18)
V(4)-O(6)-V(2)	106,04(8)	C(18)-C(17)-H(17)	119,0(18)
V(4)-O(6)-V(1)	107,58(8)	C(17)-C(18)-C(14)	119,1(3)
V(2)-O(6)-V(1)	103,13(8)	C(17)-C(18)-H(18)	121,3(18)
V(2)-O(7)-V(5)	114,10(9)	C(14)-C(18)-H(18)	119,5(18)
V(5)#1-O(8)-V(3)	114,41(9)	C(13)-N(5)-H(1N5)	119(3)
V(4)-O(9)-V(4)#1	101,71(7)	C(13)-N(5)-H(2N5)	118(3)
V(4)-O(9)-V(2)#1	96,39(7)	H(1N5)-N(5)-H(2N5)	122(4)
		C(17)-N(6)-C(16)	119,1(2)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+1,-z+1

TABELA A4. PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ANISOTRÓPICO ($\text{\AA}^2 \times 10^4$)
 PARA A EXPRESSÃO: $\exp\{-2\pi^2(h^2a^{*2}U_{11}+\dots+2hka^*b^*U_{12})\}$. E.S.DS
 ESTÃO EM PARÊNTESES.

	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
V(1)	73(2)	74(2)	77(2)	-12(2)	-6(2)	-6(2)
V(2)	69(2)	77(2)	67(2)	-3(2)	-5(2)	0(2)
V(3)	68(2)	82(2)	102(2)	-12(2)	-9(2)	-16(2)
V(4)	47(2)	74(2)	66(2)	-6(2)	-10(2)	0(2)
V(5)	81(2)	70(2)	90(2)	-5(2)	-17(2)	3(2)
O(1)	116(9)	113(9)	91(9)	-33(7)	-21(7)	-5(7)
O(2)	118(9)	126(9)	95(9)	-16(7)	-13(7)	6(7)
O(3)	73(8)	76(8)	96(9)	-7(7)	-2(7)	9(7)
O(4)	61(9)	118(9)	99(9)	-10(7)	10(7)	-19(7)
O(5)	93(9)	83(9)	92(9)	-7(7)	-27(7)	-16(7)
O(6)	67(8)	82(9)	85(9)	7(7)	-21(7)	-9(7)
O(7)	91(9)	91(9)	93(9)	12(7)	-17(7)	5(7)
O(8)	99(9)	94(9)	94(9)	-2(7)	-16(7)	-18(7)
O(9)	73(8)	84(9)	89(9)	2(7)	-29(7)	-6(7)
O(10)	111(9)	123(9)	139(10)	-24(7)	0(7)	-29(7)
O(11)	72(8)	102(9)	83(9)	-10(7)	-14(7)	-10(7)
O(12)	81(8)	98(9)	102(9)	-4(7)	-19(7)	5(7)
O(13)	137(9)	108(9)	128(10)	6(7)	-29(8)	16(7)
O(14)	56(8)	96(9)	75(9)	-6(7)	-1(7)	-10(7)
C(1)	114(12)	109(13)	112(14)	-29(10)	10(10)	-18(10)
C(2)	82(12)	69(12)	123(13)	14(10)	6(10)	-7(9)
C(3)	98(12)	133(13)	109(13)	-10(10)	-28(10)	-6(10)
C(4)	130(13)	152(14)	100(14)	-32(10)	-25(10)	6(10)
C(5)	100(12)	89(12)	148(14)	-21(10)	-28(10)	-17(10)
C(6)	117(13)	87(12)	110(14)	-17(10)	-14(10)	13(10)
N(1)	89(12)	458(18)	108(14)	98(12)	-2(10)	-25(11)
N(2)	59(10)	119(11)	130(12)	-18(9)	17(9)	4(8)
O(1A)	101(10)	376(13)	111(10)	-1(9)	-1(8)	9(9)
C(7)	124(13)	96(13)	130(14)	-2(10)	3(10)	-10(10)
C(8)	81(12)	75(12)	139(14)	8(10)	10(10)	-2(9)
C(9)	145(13)	130(13)	132(15)	2(11)	-31(11)	13(10)
C(10)	120(13)	129(13)	189(15)	-19(11)	-40(11)	-6(10)
C(11)	148(13)	115(13)	115(14)	-26(10)	-9(11)	2(10)
C(12)	83(12)	101(13)	180(14)	-7(10)	-26(11)	-2(10)
N(3)	89(12)	282(14)	116(13)	24(11)	31(10)	-22(10)
N(4)	82(11)	133(12)	166(13)	15(9)	34(10)	-17(9)
O(2A)	113(9)	296(12)	131(11)	-3(8)	16(8)	-4(8)
C(13)	125(13)	126(13)	147(15)	-16(11)	26(11)	-6(10)
C(14)	94(12)	80(12)	158(14)	9(10)	-8(10)	-4(10)
C(15)	94(13)	159(14)	157(14)	-8(11)	-52(11)	5(10)
C(16)	152(13)	134(13)	100(14)	-8(10)	-8(11)	11(10)
C(17)	122(13)	137(13)	146(14)	-21(10)	-33(11)	-10(10)
C(18)	140(13)	151(14)	97(14)	-21(10)	-20(10)	0(11)
N(5)	90(12)	396(17)	179(14)	104(12)	35(11)	-13(11)

N(6)	86(10)	108(11)	136(12)	-9(9)	11(9)	-17(8)
O(3A)	143(10)	280(12)	121(10)	14(8)1	9(8)	-7(8)

TABELA A5. COORDENADAS DE HIDROGÊNIO ($\times 10^4$) E PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ISOTRÓPICO ($\text{\AA}^2 \times 10^3$). TODOS OS ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO FORAM LOCALIZADOS EM MAPAS DE DIFERENÇA E FORAM REFINADOS LIVREMENTE (EXCETO QUE RESTRIÇÕES DE DISTÂNCIA FORAM APLICADAS AOS ÁTOMOS DE H LIGADOS A O(4) E A N(2)).

	x	y	z	U(iso)
H(1O4)	8400(40)	7010(60)	3030(30)	90(20)
H(1N1)	5050(40)	4700(40)	860(30)	27(10)
H(1N2)	-1700(30)	4130(30)	3120(20)	24(9)
H(1N3)	-4170(40)	8750(30)	8440(30)	25(10)
H(2N1)	4280(40)	4220(30)	1710(30)	18(9)
H(2N3)	-3410(40)	8970(40)	7500(30)	32(11)
H(1N4)	2560(50)	9210(40)	6380(30)	45(13)
H(1N5)	15010(40)	7760(40)	1230(30)	45(13)
H(2N5)	15790(40)	8250(30)	330(30)	24(10)
H(3)	2350(40)	4650(30)	2810(30)	29(10)
H(4)	190(30)	4480(30)	3780(20)	7(7)
H(5)	-1780(30)	3890(30)	1570(20)	15(8)
H(6)	470(30)	4120(30)	490(20)	11(7)
H(9)	270(30)	9400(30)	8840(20)	16(8)
H(10)	2570(40)	9580(30)	7820(20)	27(9)
H(11)	810(30)	8820(30)	5630(20)	7(7)
H(12)	-1510(40)	8690(30)	6510(20)	19(8)
H(15)	13060(40)	8030(30)	2230(20)	22(9)
H(16)	10970(30)	7580(30)	3210(20)	19(8)
H(17)	9060(30)	7410(30)	920(20)	11(7)
H(18)	11250(30)	7810(30)	-100(20)	8(7)

TABELA A6. ÂNGULOS DE TORÇÃO EM GRAUS. E.S.DS ESTÃO EM PARÊNTESES.

O(1)-V(1)-O(3)-V(5)#1	-176,69(10)	O(11)-V(4)-O(12)-V(5)	178,95(9)
O(5)-V(1)-O(3)-V(5)#1	-70,80(10)	O(6)-V(4)-O(12)-V(5)	-81,21(10)
O(14)#1-V(1)-O(3)-V(5)#1	85,20(10)	O(14)-V(4)-O(12)-V(5)	79,19(9)
O(6)-V(1)-O(3)-V(5)#1	28,6(2)	O(9)-V(4)-O(12)-V(5)	2,5(4)
O(9)-V(1)-O(3)-V(5)#1	9,22(9)	O(9)#1-V(4)-O(12)-V(5)	-0,71(9)
V(3)-V(1)-O(3)-V(5)#1	-39,75(8)	V(3)-V(4)-O(12)-V(5)	-179,30(4)

V(2)-V(1)-O(3)-V(5)#1	83,20(10)	V(2)-V(4)-O(12)-V(5)	-46,84(8)
O(10)-V(3)-O(5)-V(1)	-176,01(10)	O(1A)-C(1)-C(2)-C(3)	-153,3(3)
O(8)-V(3)-O(5)-V(1)	-70,79(10)	N(1)-C(1)-C(2)-C(3)	24,4(4)
O(4)#1-V(3)-O(5)-V(1)	26,3(2)	O(1A)-C(1)-C(2)-C(6)	23,4(4)
O(11)-V(3)-O(5)-V(1)	85,09(10)	N(1)-C(1)-C(2)-C(6)	-158,9(3)
O(9)-V(3)-O(5)-V(1)	10,24(9)	C(6)-C(2)-C(3)-C(4)	-1,9(4)
V(5)#1-V(3)-O(5)-V(1)	-39,29(8)	C(1)-C(2)-C(3)-C(4)	174,8(2)
V(4)-V(3)-O(5)-V(1)	54,41(8)	C(2)-C(3)-C(4)-N(2)	1,0(4)
O(1)-V(1)-O(5)-V(3)	172,98(10)	N(2)-C(5)-C(6)-C(2)	-0,7(4)
O(3)-V(1)-O(5)-V(3)	69,80(10)	C(3)-C(2)-C(6)-C(5)	1,7(4)
O(14)#1-V(1)-O(5)-V(3)	-34,2(2)	C(1)-C(2)-C(6)-C(5)	-175,1(2)
O(6)-V(1)-O(5)-V(3)	-86,30(10)	C(6)-C(5)-N(2)-C(4)	-0,3(4)
O(9)-V(1)-O(5)-V(3)	-10,44(9)	C(3)-C(4)-N(2)-C(5)	0,1(4)
V(2)-V(1)-O(5)-V(3)	-86,50(10)	O(2A)-C(7)-C(8)-C(12)	160,8(3)
V(5)#1-V(1)-O(5)-V(3)	38,86(8)	N(3)-C(7)-C(8)-C(12)	-17,6(4)
O(2)-V(2)-O(7)-V(5)	-171,77(9)	O(2A)-C(7)-C(8)-C(9)	-16,0(4)
O(4)-V(2)-O(7)-V(5)	-71,12(10)	N(3)-C(7)-C(8)-C(9)	165,6(3)
O(6)-V(2)-O(7)-V(5)	83,71(10)	C(12)-C(8)-C(9)-C(10)	-2,4(4)
O(14)#1-V(2)-O(7)-V(5)	18,1(3)	C(7)-C(8)-C(9)-C(10)	174,5(2)
O(9)#1-V(2)-O(7)-V(5)	6,36(9)	C(8)-C(9)-C(10)-N(4)	0,2(4)
V(4)-V(2)-O(7)-V(5)	50,05(8)	C(9)-C(8)-C(12)-C(11)	2,7(4)
V(1)-V(2)-O(7)-V(5)	82,44(11)	C(7)-C(8)-C(12)-C(11)	-174,0(2)
O(10)-V(3)-O(8)-V(5)#1	-179,59(10)	N(4)-C(11)-C(12)-C(8)	-0,9(4)
O(5)-V(3)-O(8)-V(5)#1	75,14(10)	C(12)-C(11)-N(4)-C(10)	-1,4(4)
O(4)#1-V(3)-O(8)-V(5)#1	-79,28(10)	C(9)-C(10)-N(4)-C(11)	1,7(4)
O(11)-V(3)-O(8)-V(5)#1	-11,4(3)	O(3A)-C(13)-C(14)-C(15)	-163,4(3)
O(9)-V(3)-O(8)-V(5)#1	-3,68(9)	N(5)-C(13)-C(14)-C(15)	16,0(4)
V(1)-V(3)-O(8)-V(5)#1	43,80(8)	O(3A)-C(13)-C(14)-C(18)	16,8(4)
V(4)-V(3)-O(8)-V(5)#1	-4,95(13)	N(5)-C(13)-C(14)-C(18)	-163,7(3)

O(12)-V(4)-O(11)-V(3)	178,45(9)	C(18)-C(14)-C(15)-C(16)	-0,1(4)
O(6)-V(4)-O(11)-V(3)	77,89(9)	C(13)-C(14)-C(15)-C(16)	-179,8(2)
O(14)-V(4)-O(11)-V(3)	-82,21(9)	C(14)-C(15)-C(16)-N(6)	0,0(4)
O(9)-V(4)-O(11)-V(3)	-2,46(9)	N(6)-C(17)-C(18)-C(14)	0,0(4)
O(9)#1-V(4)-O(11)-V(3)	-2,9(4)	C(15)-C(14)-C(18)-C(17)	0,1(4)
V(2)-V(4)-O(11)-V(3)	80,28(10)	C(13)-C(14)-C(18)-C(17)	179,9(2)
V(5)-V(4)-O(11)-V(3)	179,58(4)	C(18)-C(17)-N(6)-C(16)	-0,1(4)
		C(15)-C(16)-N(6)-C(17)	0,2(4)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+1,-z+1

TABELA A7. LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO, EM ÂNGSTRONS E GRAUS.

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(1)-H(1N1)...O(1A)#2	0,84(4)	2,06(4)	2,894(3)	172(3)
N(2)-H(1N2)...O(14)#3	0,856(18)	1,696(19)	2,547(3)	173(3)
N(3)-H(1N3)...O(3A)#4	0,79(4)	2,16(4)	2,953(3)	177(4)
N(3)-H(2N3)...O(13)#5	0,78(4)	2,29(4)	2,984(3)	149(4)
N(4)-H(1N4)...O(3)#1	0,77(4)	2,00(4)	2,672(3)	146(4)
N(5)-H(2N5)...O(2A)#6	0,79(4)	2,17(4)	2,960(3)	178(4)
O(4)-H(1O4)...N(6)	0,83(2)	1,72(2)	2,554(3)	176(6)
C(3)-H(3)...O(6)	0,88(4)	2,27(4)	3,152(3)	177(3)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+1,-z+1 #2 -x+1,-y+1,-z #3 -x,-y+1,-z+1 #4 x-2,y,z+1 #5 -x,-y+2,-z+1 #6 x+2,y,z-1

Crystal structure analysis of [(C₅H₄NH-CONH₂)₄][H₂V₁₀O₂₈](C₅H₄N-CONH₂)₂

Crystal data: 4(C₆H₇N₂O), H₂V₁₀O₂₈, 2(C₆H₆N₂O), M = 1696.21. Triclinic, space group P-1 (no. 2), a = 9.3942(9) Å, b = 10.2468(9) Å, c = 14.0204(13) Å, α = 82.984(4)°, β = 81.607(4)°, γ = 88.817(4)°, V = 1325.2(2) Å³. Z = 1, D_c = 2.126 g cm⁻³, F(000) = 844, T = 100(2) K, μ(Mo-Kα) = 1.795 mm⁻¹, λ(Mo-Kα) = 0.71073 Å.

Crystals are yellow blocks. From a sample under oil, one, ca 0.129 x 0.091 x 0.034 mm, was mounted on a Micro-mount/mesh and fixed in the cold nitrogen stream on a Bruker D8 Venture diffractometer, equipped with a Photon 100 CMOS detector, Mo-Kα radiation and graphite monochromator. Intensity data were measured by thin-slice ω- and φ-scans. Total no. of reflections recorded, to θ_{max} = 27.5°, was 57076 of which 6081 were unique (R_{int} = 0.092); 4752 were 'observed' with I > 2σ_I.

Data were processed using the APEX3 (1) program. The structure was determined by the direct methods routines in the SHELXS program (2A) and refined by full-matrix least-squares methods, on F^2 's, in SHELXL (2B). The non-hydrogen atoms were refined with anisotropic thermal parameters. All hydrogen atoms were located in difference maps and were refined isotropically and freely (except for the H atoms bonded to O(4) and to N(2) where distance restraints were applied). At the conclusion of the refinement, $wR_2 = 0.079$ and $R_1 = 0.056$ (2B) for all 6081 reflections weighted $w = [\sigma^2(F_o^2) + (0.0299P)^2 + 1.9201P]^{-1}$ with $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$; for the 'observed' data only, $R_1 = 0.035$.

In the final difference map, the highest peak (*ca* 0.48 eÅ⁻³) was near C(10) atom .

Scattering factors for neutral atoms were taken from reference (3). Computer programs used in this analysis have been noted above, and were run through WinGX (4) at the Universidade Federal do Paraná.

References

- (1) Program APEX3, Bruker AXS Inc., Madison, WI (2015).
- (2) G. M. Sheldrick, SHELX – Programs for crystal structure determination (SHELXS-2013) and refinement (SHELXL-2014), *Acta Cryst.* (2008) **A64**, 112-122 and (2015) **C71**, 3-8.
- (3) '*International Tables for X-ray Crystallography*', Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (1992). Vol. C, pp. 500, 219 and 193.
- (4) L. J. Farrugia, (2012) *J. Appl. Cryst.* **45**, 849–854.

ANEXO 3

TABELA A1. DADOS CRISTALOGRAFICOS E REFINAMENTO DA ESTRUTURA
 PARA $\{[C_5H_4NH-CONH_2]_4[H_2V_{10}O_{28}](C_5H_4N-CONH_2)_2\} \cdot 2(H_2O)$
 (NicoV₁₀)

Código de identificação	JMM01_20a
Fórmula elementar	4(C ₆ H ₇ N ₂ O), H ₂ O ₂₈ V ₁₀ , 2(C ₆ H ₆ N ₂ O), 2(H ₂ O)
Massa/mol (g/mol)	1732,25
Temperatura	300(2) K
Comprimento de onda	0,71073 Å
Sistema cristalino, grupo espacial	Monoclínico, C2/c (nº 15)
Dimensões da célula unitária	a = 25,8951(11) Å α = 90° b = 9,5597(4) Å β = 107,278(2)° c = 23,8816(10) Å γ = 90°
Volume	5645,1(4) Å ³
Z, densidade calculada	4, 2,038 mg/m ³
F(000)	3456
Coeficiente de absorção	1,690 mm ⁻¹
Cor do cristal, formato	bloco amarelo
Tamanho do cristal	0,310 x 0,234 x 0,124 mm
No difratômetro:	
Faixa de coleta de dados	3,6 a 27,5 °
Índices limitantes	-33 ≤ h ≤ 33, -12 ≤ k ≤ 12, -31 ≤ l ≤ 31
Completude para θ	25,2 99,7 %
Correção de absorção	Semi-empírica de equivalentes
Transmissão máxima e mínima	0,7457 e 0,6656
Reflexões coletadas / únicas	59393 / 6469 [R(int) = 0,051]
Número de reflexões "observadas" (I > 2σ _I)	5175
Estrutura determinada por:	Métodos diretos, em SHELXS
Refinamento:	Matriz integral mínimos quadrados em F ²
Dados / restrições / parâmetros	6469 / 2 / 516
Qualidade de ajuste em F ²	1,052
R (dados "observados")	R ₁ = 0,030, wR ₂ = 0,075
R (todos os dados)	R ₁ = 0,046, wR ₂ = 0,080
Reflexões ponderadas:	w = [σ ² (F _o ²) + (0,0389*P) ² + 7,4351*P] ⁻¹ onde P = (F _o ² + 2F _c ²)/3
Coeficiente de extinção	n/a
Maior diferença pico e buraco	0,44 e -0,32 e, Å ⁻³
Localização do pico de maior diferença	próximo ao H(18B)

TABELA A2. COORDENADAS ATÔMICAS ($\times 10^5$) E PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ISOTRÓPICO EQUIVALENTES ($\text{\AA}^2 \times 10^4$). $U(\text{eq})$ É DEFINIDO COMO UM TERÇO DO TRAÇO DO TENSOR U_{ij} ORTOGONALIZADO.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
V(1)	60244(2)	48176(4)	48996(2)	192,2(9)
V(2)	42652(2)	49799(4)	39122(2)	190,9(9)
V(3)	53093(2)	63979(4)	38076(2)	247,1(10)
V(4)	50786(2)	67101(3)	49973(2)	164,9(8)
V(5)	52468(2)	31890(4)	38579(2)	225,6(9)
O(1)	66549(6)	46588(18)	52567(7)	306(4)
O(2)	36332(6)	51382(17)	35654(7)	313(4)
O(3)	59200(5)	32826(15)	43982(6)	232(3)
O(4)	45655(6)	63643(16)	35545(6)	251(3)
O(5)	60026(6)	60769(16)	43643(7)	247(3)
O(6)	57875(5)	61358(14)	54108(6)	179(3)
O(7)	44848(6)	35629(16)	35729(6)	235(3)
O(8)	51185(5)	49112(14)	44983(6)	170(3)
O(9)	54464(7)	75596(19)	33916(8)	397(4)
O(10)	52160(6)	76671(15)	44698(6)	234(3)
O(11)	49732(6)	78390(15)	54932(6)	222(3)
O(12)	53654(6)	47243(17)	34576(7)	265(3)
O(13)	57024(5)	35712(15)	54303(6)	183(3)
O(14)	53147(7)	18827(18)	34695(8)	369(4)
C(1)	69502(8)	105440(20)	67148(9)	212(4)
C(2)	66623(9)	116100(20)	63714(10)	240(4)
C(3)	60089(10)	100980(30)	58438(11)	306(5)
C(4)	62770(11)	89770(30)	61554(12)	392(6)
C(5)	67516(10)	91970(20)	65999(11)	323(6)
C(6)	74578(9)	109300(20)	71835(10)	259(5)
N(1)	77081(10)	99320(30)	75400(10)	380(6)
N(2)	62002(7)	113952(19)	59462(8)	249(4)
O(1A)	76244(7)	121519(18)	72222(8)	440(5)
C(7)	73189(9)	3590(20)	54167(10)	246(5)
C(8)	69697(9)	13700(20)	51107(10)	269(5)
C(9)	63795(11)	-2940(30)	45520(12)	368(6)
C(10)	67151(12)	-13460(30)	48327(13)	428(7)
C(11)	71836(11)	-10220(30)	52708(11)	354(6)
C(12)	78049(9)	8610(20)	58941(10)	260(5)
N(3)	80850(9)	-680(30)	62672(11)	367(5)
N(4)	65156(8)	10320(20)	46986(9)	312(4)
O(2A)	79154(7)	21176(18)	59224(8)	377(4)
C(13)	34623(9)	93320(20)	19691(9)	256(5)
C(14)	37016(10)	82120(30)	23127(11)	307(5)
C(15)	44122(11)	95890(30)	28552(12)	408(6)
C(16)	42053(12)	107300(30)	25283(14)	455(7)
C(17)	37206(11)	106170(30)	20809(12)	363(6)
C(18)	29320(9)	90750(20)	15079(10)	283(5)

N(5)	26723(10)	101480(30)	12188(11)	379(5)
N(6)	41616(8)	83610(20)	27465(9)	352(5)
O(3A)	27616(8)	78708(19)	14204(9)	495(5)
O(18)	59848(11)	45780(40)	26900(12)	810(10)

TABELA A3. DIMENSÕES MOLECULARES. OS COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO ESTÃO EM ÂNGSTROMS, ÂNGULOS EM GRAUS. E.S.DS ESTÃO EM PARÊNTESES.

V(1)-O(1)	1.6089(15)	C(3)-C(4)	1.370(3)
V(1)-O(5)	1.7446(15)	C(3)-H(3)	0.88(3)
V(1)-O(3)	1.8623(15)	C(4)-C(5)	1.381(3)
V(1)-O(6)	1.9747(14)	C(4)-H(4)	0.83(3)
V(1)-O(13)	2.0854(15)	C(5)-H(5)	0.91(3)
V(1)-O(8)	2.2570(13)	C(6)-O(1A)	1.239(3)
V(2)-O(2)	1.6068(15)	C(6)-N(1)	1.314(3)
V(2)-O(7)	1.7575(15)	N(1)-H(1N1)	0.77(3)
V(2)-O(4)	1.8656(15)	N(1)-H(2N1)	0.78(4)
V(2)-O(6)#1	1.9752(14)	C(7)-C(8)	1.376(3)
V(2)-O(13)#1	2.0768(15)	C(7)-C(11)	1.383(3)
V(2)-O(8)	2.2381(13)	C(7)-C(12)	1.504(3)
V(3)-O(9)	1.5988(17)	C(8)-N(4)	1.330(3)
V(3)-O(12)	1.8307(16)	C(8)-H(8)	0.89(3)
V(3)-O(4)	1.8397(15)	C(9)-N(4)	1.335(3)
V(3)-O(5)	1.9149(15)	C(9)-C(10)	1.367(4)
V(3)-O(10)	2.0635(15)	C(9)-H(9)	0.94(3)
V(3)-O(8)	2.3387(14)	C(10)-C(11)	1.382(4)
V(4)-O(10)	1.6784(15)	C(10)-H(10)	0.87(3)
V(4)-O(11)	1.6834(15)	C(11)-H(11)	0.92(3)
V(4)-O(6)	1.8895(13)	C(12)-O(2A)	1.232(3)

V(4)-O(13)#1	1.9946(14)	C(12)-N(3)	1.313(3)
V(4)-O(8)	2.1121(14)	N(3)-H(1N3)	0.82(3)
V(4)-O(8)#1	2.1164(14)	N(3)-H(2N3)	0.85(3)
V(5)-O(14)	1.5962(16)	N(4)-H(1N4)	0.89(3)
V(5)-O(12)	1.8266(16)	C(13)-C(14)	1.379(3)
V(5)-O(3)	1.8375(14)	C(13)-C(17)	1.386(3)
V(5)-O(7)	1.9199(14)	C(13)-C(18)	1.504(3)
V(5)-O(11)#1	2.0533(15)	C(14)-N(6)	1.334(3)
V(5)-O(8)	2.3371(14)	C(14)-H(14)	0.91(3)
O(6)-V(2)#1	1.9753(14)	C(15)-N(6)	1.330(4)
O(8)-V(4)#1	2.1164(14)	C(15)-C(16)	1.356(4)
O(11)-V(5)#1	2.0533(15)	C(15)-H(15)	0.93(3)
O(13)-V(4)#1	1.9946(14)	C(16)-C(17)	1.390(4)
O(13)-V(2)#1	2.0768(15)	C(16)-H(16)	0.79(3)
O(13)-H(13)	0.846(19)	C(17)-H(17)	0.86(3)
C(1)-C(2)	1.380(3)	C(18)-O(3A)	1.228(3)
C(1)-C(5)	1.384(3)	C(18)-N(5)	1.306(3)
C(1)-C(6)	1.498(3)	N(5)-H(1N5)	0.79(4)
C(2)-N(2)	1.335(3)	N(5)-H(2N5)	0.76(3)
C(2)-H(2)	0.91(3)	N(6)-H(1N6)	0.864(18)
C(3)-N(2)	1.331(3)	O(18)-H(18A)	0.68(5)
		O(18)-H(18B)	0.80(4)
O(1)-V(1)-O(5)	105.10(8)	V(4)-O(8)-V(5)	169.44(7)
O(1)-V(1)-O(3)	101.37(7)	V(4)#1-O(8)-V(5)	87.81(5)
O(5)-V(1)-O(3)	96.07(7)	V(2)-O(8)-V(5)	85.25(5)
O(1)-V(1)-O(6)	100.67(7)	V(1)-O(8)-V(5)	85.31(5)

O(5)-V(1)-O(6)	93.68(7)	V(4)-O(8)-V(3)	87.66(5)
O(3)-V(1)-O(6)	152.62(6)	V(4)#1-O(8)-V(3)	169.65(7)
O(1)-V(1)-O(13)	98.62(7)	V(2)-O(8)-V(3)	85.25(5)
O(5)-V(1)-O(13)	155.20(6)	V(1)-O(8)-V(3)	85.00(5)
O(3)-V(1)-O(13)	86.14(6)	V(5)-O(8)-V(3)	82.28(5)
O(6)-V(1)-O(13)	74.64(6)	V(4)-O(10)-V(3)	110.73(8)
O(1)-V(1)-O(8)	172.68(8)	V(4)-O(11)-V(5)#1	111.31(7)
O(5)-V(1)-O(8)	81.84(6)	V(5)-O(12)-V(3)	114.51(8)
O(3)-V(1)-O(8)	79.87(5)	V(4)#1-O(13)-V(2)#1	106.50(6)
O(6)-V(1)-O(8)	76.27(5)	V(4)#1-O(13)-V(1)	107.07(6)
O(13)-V(1)-O(8)	74.21(5)	V(2)#1-O(13)-V(1)	98.33(6)
O(2)-V(2)-O(7)	104.74(8)	V(4)#1-O(13)-H(13)	114(3)
O(2)-V(2)-O(4)	101.33(8)	V(2)#1-O(13)-H(13)	110(3)
O(7)-V(2)-O(4)	95.72(7)	V(1)-O(13)-H(13)	120(3)
O(2)-V(2)-O(6)#1	99.52(7)	C(2)-C(1)-C(5)	117.8(2)
O(7)-V(2)-O(6)#1	94.11(7)	C(2)-C(1)-C(6)	117.5(2)
O(4)-V(2)-O(6)#1	153.82(6)	C(5)-C(1)-C(6)	124.73(19)
O(2)-V(2)-O(13)#1	97.65(7)	N(2)-C(2)-C(1)	122.8(2)
O(7)-V(2)-O(13)#1	156.45(6)	N(2)-C(2)-H(2)	115.6(17)
O(4)-V(2)-O(13)#1	86.81(6)	C(1)-C(2)-H(2)	121.5(17)
O(6)#1-V(2)-O(13)#	74.83(6)	N(2)-C(3)-C(4)	121.9(2)
O(2)-V(2)-O(8)	172.03(7)	N(2)-C(3)-H(3)	114.8(17)
O(7)-V(2)-O(8)	82.60(6)	C(4)-C(3)-H(3)	123.2(17)
O(4)-V(2)-O(8)	80.72(6)	C(3)-C(4)-C(5)	119.4(2)
O(6)#1-V(2)-O(8)	76.56(5)	C(3)-C(4)-H(4)	120(2)
O(13)#1-V(2)-O(8)	74.69(5)	C(5)-C(4)-H(4)	120(2)
O(9)-V(3)-O(12)	105.13(9)	C(4)-C(5)-C(1)	119.2(2)

O(9)-V(3)-O(4)	102.24(8)	C(4)-C(5)-H(5)	119.2(17)
O(12)-V(3)-O(4)	92.98(7)	C(1)-C(5)-H(5)	121.6(17)
O(9)-V(3)-O(5)	101.97(8)	O(1A)-C(6)-N(1)	122.8(2)
O(12)-V(3)-O(5)	89.53(7)	O(1A)-C(6)-C(1)	119.8(2)
O(4)-V(3)-O(5)	154.08(7)	N(1)-C(6)-C(1)	117.4(2)
O(9)-V(3)-O(10)	99.56(8)	C(6)-N(1)-H(1N1)	119(2)
O(12)-V(3)-O(10)	155.08(7)	C(6)-N(1)-H(2N1)	123(3)
O(4)-V(3)-O(10)	84.99(6)	H(1N1)-N(1)-H(2N1)	116(3)
O(5)-V(3)-O(10)	82.02(6)	C(3)-N(2)-C(2)	118.92(19)
O(9)-V(3)-O(8)	173.18(8)	C(8)-C(7)-C(11)	117.3(2)
O(12)-V(3)-O(8)	81.54(6)	C(8)-C(7)-C(12)	116.6(2)
O(4)-V(3)-O(8)	78.53(6)	C(11)-C(7)-C(12)	126.0(2)
O(5)-V(3)-O(8)	76.34(6)	N(4)-C(8)-C(7)	121.3(2)
O(10)-V(3)-O(8)	73.71(5)	N(4)-C(8)-H(8)	115.8(16)
O(10)-V(4)-O(11)	107.06(8)	C(7)-C(8)-H(8)	122.9(16)
O(10)-V(4)-O(6)	99.26(7)	N(4)-C(9)-C(10)	119.4(2)
O(11)-V(4)-O(6)	98.85(6)	N(4)-C(9)-H(9)	116.9(19)
O(10)-V(4)-O(13)#1	95.63(7)	C(10)-C(9)-H(9)	123.7(19)
O(11)-V(4)-O(13)#1	95.46(6)	C(9)-C(10)-C(11)	119.6(3)
O(6)-V(4)-O(13)#1	155.29(6)	C(9)-C(10)-H(10)	119(2)
O(10)-V(4)-O(8)	87.91(6)	C(11)-C(10)-H(10)	121(2)
O(11)-V(4)-O(8)	164.63(7)	C(10)-C(11)-C(7)	120.3(2)
O(6)-V(4)-O(8)	81.69(6)	C(10)-C(11)-H(11)	118.1(18)
O(13)#1-V(4)-O(8)	79.25(6)	C(7)-C(11)-H(11)	121.4(18)
O(10)-V(4)-O(8)#1	165.27(7)	O(2A)-C(12)-N(3)	123.4(2)
O(11)-V(4)-O(8)#1	87.26(6)	O(2A)-C(12)-C(7)	118.8(2)
O(6)-V(4)-O(8)#1	81.42(6)	N(3)-C(12)-C(7)	117.9(2)

O(13)#1-V(4)-O(8)#1	79.24(6)	C(12)-N(3)-H(1N3)	120(2)
O(8)-V(4)-O(8)#1	77.60(6)	C(12)-N(3)-H(2N3)	120(2)
O(14)-V(5)-O(12)	105.06(8)	H(1N3)-N(3)-H(2N3)	121(3)
O(14)-V(5)-O(3)	101.58(8)	C(8)-N(4)-C(9)	122.1(2)
O(12)-V(5)-O(3)	93.23(7)	C(8)-N(4)-H(1N4)	116(2)
O(14)-V(5)-O(7)	102.63(8)	C(9)-N(4)-H(1N4)	121(2)
O(12)-V(5)-O(7)	88.84(7)	C(14)-C(13)-C(17)	117.9(2)
O(3)-V(5)-O(7)	154.26(7)	C(14)-C(13)-C(18)	117.4(2)
O(14)-V(5)-O(11)#1	99.63(8)	C(17)-C(13)-C(18)	124.7(2)
O(12)-V(5)-O(11)#1	155.09(7)	N(6)-C(14)-C(13)	121.3(2)
O(3)-V(5)-O(11)#1	84.92(6)	N(6)-C(14)-H(14)	118.0(18)
O(7)-V(5)-O(11)#1	82.56(6)	C(13)-C(14)-H(14)	120.7(18)
O(14)-V(5)-O(8)	173.26(8)	N(6)-C(15)-C(16)	120.8(2)
O(12)-V(5)-O(8)	81.67(6)	N(6)-C(15)-H(15)	117(2)
O(3)-V(5)-O(8)	78.22(6)	C(16)-C(15)-H(15)	122(2)
O(7)-V(5)-O(8)	76.71(5)	C(15)-C(16)-C(17)	119.5(3)
O(11)#1-V(5)-O(8)	73.63(5)	C(15)-C(16)-H(16)	122(3)
V(5)-O(3)-V(1)	114.59(7)	C(17)-C(16)-H(16)	118(2)
V(3)-O(4)-V(2)	113.59(7)	C(13)-C(17)-C(16)	119.4(2)
V(1)-O(5)-V(3)	116.04(8)	C(13)-C(17)-H(17)	122.9(17)
V(4)-O(6)-V(1)	107.12(6)	C(16)-C(17)-H(17)	117.6(17)
V(4)-O(6)-V(2)#1	106.98(7)	O(3A)-C(18)-N(5)	122.9(2)
V(1)-O(6)-V(2)#1	105.74(6)	O(3A)-C(18)-C(13)	118.8(2)
V(2)-O(7)-V(5)	114.79(7)	N(5)-C(18)-C(13)	118.3(2)
V(4)-O(8)-V(4)#1	102.39(6)	C(18)-N(5)-H(1N5)	123(2)
V(4)-O(8)-V(2)	97.14(5)	C(18)-N(5)-H(2N5)	116(2)
V(4)#1-O(8)-V(2)	90.99(5)	H(1N5)-N(5)-H(2N5)	122(3)

V(4)-O(8)-V(1)	90.67(5)	C(15)-N(6)-C(14)	121.1(2)
V(4)#1-O(8)-V(1)	97.20(5)	C(15)-N(6)-H(1N6)	119(3)
V(2)-O(8)-V(1)	167.24(7)	C(14)-N(6)-H(1N6)	120(3)
		H(18A)-O(18)-H(18B)	101(5)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+1,-z+1

TABELA A4. PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ANISOTRÓPICO ($\text{\AA}^2 \times 10^4$)
PARA A EXPRESSÃO: $\exp\{-2\pi^2(h^2a^{*2}U_{11}+\dots+2hka^*b^*U_{12})\}$. E.S.DS
ESTÃO EM PARÊNTESES.

	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
V(1)	130,8(16)	206,1(18)	211,8(18)	-14,6(14)	8,2(13)	0,3(13)
V(2)	161,7(16)	210,8(18)	149,3(17)	-5,2(13)	-31,8(13)	11,4(13)
V(3)	261,1(19)	261,3(20)	209,1(19)	51,6(15)	54,7(15)	-7,8(15)
V(4)	161,9(16)	120,4(16)	177,1(17)	0,5(12)	-3,8(13)	-4,5(13)
V(5)	209,8(18)	239,5(19)	203,4(19)	-58,1(15)	24,4(14)	13,4(14)
O(1)	162(7)	370(9)	329(9)	-51(7)	-14(6)	26(7)
O(2)	209(8)	385(10)	254(8)	-29(7)	-69(6)	25(7)
O(3)	178(7)	249(8)	245(8)	-35(6)	25(6)	36(6)
O(4)	252(7)	274(8)	190(7)	68(6)	9(6)	26(6)
O(5)	207(7)	252(8)	269(8)	2(6)	51(6)	-37(6)
O(6)	147(6)	160(7)	192(7)	-18(6)	-8(5)	-14(5)
O(7)	200(7)	274(8)	191(7)	-50(6)	-4(6)	-5(6)
O(8)	151(6)	168(7)	161(7)	0(5)	0(5)	-1(5)
O(9)	456(10)	403(10)	356(10)	140(8)	158(8)	-8(8)
O(10)	251(7)	169(7)	260(8)	39(6)	41(6)	-5(6)
O(11)	216(7)	166(7)	253(8)	-31(6)	22(6)	-2(6)
O(12)	260(8)	335(9)	195(8)	-10(7)	59(6)	9(7)
O(13)	157(6)	161(7)	183(7)	24(6)	-25(5)	34(6)
O(14)	359(9)	375(10)	365(10)	-163(8)	93(8)	15(8)
C(1)	233(10)	200(10)	175(10)	12(8)	21(8)	19(8)
C(2)	252(10)	175(11)	270(11)	20(9)	44(9)	14(9)
C(3)	254(11)	320(13)	274(12)	35(10)	-28(10)	-34(10)
C(4)	426(14)	203(12)	434(15)	32(11)	-43(12)	-103(11)
C(5)	371(13)	181(11)	327(13)	69(10)	-35(10)	25(10)
C(6)	262(11)	259(11)	224(11)	-27(9)	22(9)	33(9)
N(1)	323(11)	364(13)	308(12)	58(10)	-128(10)	-13(10)
N(2)	234(9)	232(9)	245(9)	62(8)	16(7)	39(7)
O(1A)	438(10)	262(9)	470(11)	-58(8)	-93(9)	-48(8)
C(7)	254(10)	232(11)	263(11)	5(9)	92(9)	22(9)
C(8)	315(12)	209(11)	296(12)	6(9)	112(10)	18(9)
C(9)	322(13)	405(15)	335(14)	10(11)	33(11)	-51(11)

C(10)	520(17)	268(13)	419(15)	-9(12)	22(13)	-88(12)
C(11)	415(14)	225(12)	357(14)	34(10)	17(11)	37(11)
C(12)	270(11)	253(11)	265(11)	-14(9)	91(9)	11(9)
N(3)	327(12)	290(12)	398(13)	26(10)	-25(10)	-7(10)
N(4)	272(10)	338(11)	318(11)	55(9)	79(8)	65(9)
O(2A)	460(10)	256(9)	379(10)	-10(7)	68(8)	-74(8)
C(13)	262(11)	282(12)	210(11)	-11(9)	49(9)	-11(9)
C(14)	286(12)	292(13)	315(13)	0(10)	45(10)	21(10)
C(15)	297(13)	497(17)	362(14)	34(13)	-8(11)	-10(12)
C(16)	421(15)	382(16)	482(17)	-8(13)	10(13)	-184(13)
C(17)	397(14)	295(13)	344(14)	70(11)	28(11)	-51(11)
C(18)	290(11)	266(12)	269(12)	-21(9)	47(9)	-3(10)
N(5)	327(12)	298(13)	382(13)	40(10)	-93(10)	-27(10)
N(6)	306(11)	411(13)	300(11)	58(10)	29(9)	84(10)
O(3A)	459(11)	243(9)	602(13)	-57(9)	-118(9)	-21(8)
O(18)	437(13)	1670(30)	322(13)	-176(16)	113(11)	-102(16)

TABELA A5. COORDENADAS DE HIDROGÊNIO ($\times 10^4$) E PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ISOTRÓPICO ($\text{\AA}^2 \times 10^3$). TODOS OS ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO FORAM LOCALIZADOS EM MAPAS DE DIFERENÇA E FORAM REFINADOS LIVREMENTE (EXCETO QUE RESTRIÇÕES DE DISTÂNCIA FORAM APLICADAS AOS ÁTOMOS DE H LIGADOS A O(13) E A N(6)).

	x	y	z	U(iso)
H(13)	5865(14)	2830(30)	5579(16)	92(13)
H(2)	6783(10)	12510(30)	6415(11)	38(7)
H(3)	5708(11)	10020(30)	5554(12)	36(7)
H(4)	6161(12)	8170(30)	6068(13)	50(9)
H(5)	6935(11)	8450(30)	6798(12)	38(7)
H(1N1)	7953(13)	10120(30)	7801(14)	42(9)
H(2N1)	7583(14)	9190(40)	7543(15)	62(12)
H(8)	7031(10)	2280(30)	5172(11)	30(7)
H(9)	6049(13)	-450(30)	4262(14)	54(9)
H(10)	6618(12)	-2210(40)	4745(14)	59(10)
H(11)	7388(12)	-1750(30)	5475(13)	48(8)
H(1N3)	7990(12)	-890(40)	6235(14)	51(9)
H(1N4)	6284(12)	1730(30)	4559(13)	54(9)
H(2N3)	8355(14)	190(30)	6546(15)	55(10)
H(14)	3542(11)	7360(30)	2259(12)	43(8)
H(15)	4732(13)	9620(30)	3166(13)	54(9)
H(16)	4337(13)	11470(40)	2599(14)	60(10)
H(17)	3588(10)	11370(30)	1893(11)	30(7)
H(1N5)	2785(14)	10920(40)	1274(15)	61(11)
H(1N6)	4301(14)	7650(30)	2962(15)	88(13)
H(2N5)	2398(13)	9990(30)	998(14)	39(8)
H(18A)	5780(20)	4700(60)	2820(20)	110(20)

H(18B) 5814(17) 4310(40) 2370(20) 85(14)

- ocupação do sítio, se diferente de 1.

TABELA A6. ÂNGULOS DE TORÇÃO EM GRAUS. E.S.DS ESTÃO EM PARÊNTESES.

O(14)-V(5)-O(3)-V(1)	174,44(9)	O(8)#1-V(4)-O(10)-V(3)	-10,5(3)
O(12)-V(5)-O(3)-V(1)	68,35(9)	V(5)#1-V(4)-O(10)-V(3)	-172,85(3)
O(7)-V(5)-O(3)-V(1)	-25,7(2)	V(2)#1-V(4)-O(10)-V(3)	82,82(9)
O(11)#1-V(5)-O(3)-V(1)	-86,75(8)	V(1)-V(4)-O(10)-V(3)	46,35(6)
O(8)-V(5)-O(3)-V(1)	-12,44(8)	O(10)-V(4)-O(11)-V(5)#1	176,47(7)
V(3)-V(5)-O(3)-V(1)	36,36(7)	O(6)-V(4)-O(11)-V(5)#1	-80,93(8)
V(4)#1-V(5)-O(3)-V(1)	-56,38(7)	O(13)#1-V(4)-O(11)-V(5)#1	78,87(7)
V(2)-V(5)-O(3)-V(1)	-13,10(11)	O(8)-V(4)-O(11)-V(5)#1	9,9(3)
O(1)-V(1)-O(3)-V(5)	-174,52(9)	O(8)#1-V(4)-O(11)-V(5)#1	-0,05(7)
O(5)-V(1)-O(3)-V(5)	-67,75(9)	V(3)-V(4)-O(11)-V(5)#1	172,78(3)
O(6)-V(1)-O(3)-V(5)	42,48(18)	V(2)#1-V(4)-O(11)-V(5)#1	-46,18(6)
O(13)-V(1)-O(3)-V(5)	87,46(8)	V(1)-V(4)-O(11)-V(5)#1	-82,62(9)
O(8)-V(1)-O(3)-V(5)	12,82(8)	O(14)-V(5)-O(12)-V(3)	179,75(9)
V(3)-V(1)-O(3)-V(5)	-36,04(7)	O(3)-V(5)-O(12)-V(3)	-77,33(9)
V(4)-V(1)-O(3)-V(5)	12,33(11)	O(7)-V(5)-O(12)-V(3)	76,98(9)
O(9)-V(3)-O(4)-V(2)	174,95(10)	O(11)#1-V(5)-O(12)-V(3)	7,6(2)
O(12)-V(3)-O(4)-V(2)	68,77(9)	O(8)-V(5)-O(12)-V(3)	0,25(8)
O(5)-V(3)-O(4)-V(2)	-26,3(2)	V(4)#1-V(5)-O(12)-V(3)	2,88(11)
O(10)-V(3)-O(4)-V(2)	-86,33(8)	V(2)-V(5)-O(12)-V(3)	46,83(7)
O(8)-V(3)-O(4)-V(2)	-11,97(7)	V(1)-V(5)-O(12)-V(3)	-46,56(7)
V(5)-V(3)-O(4)-V(2)	36,77(7)	O(9)-V(3)-O(12)-V(5)	178,28(9)
V(4)-V(3)-O(4)-V(2)	-55,84(7)	O(4)-V(3)-O(12)-V(5)	-78,19(9)

V(1)-V(3)-O(4)-V(2)	-12,77(11)	O(5)-V(3)-O(12)-V(5)	76,00(9)
O(2)-V(2)-O(4)-V(3)	-175,40(9)	O(10)-V(3)-O(12)-V(5)	6,3(2)
O(7)-V(2)-O(4)-V(3)	-69,09(9)	O(8)-V(3)-O(12)-V(5)	-0,25(8)
O(6)#1-V(2)-O(4)-V(3)	42,44(19)	V(4)-V(3)-O(12)-V(5)	2,26(11)
O(13)#1-V(2)-O(4)-V(3)	87,43(8)	V(2)-V(3)-O(12)-V(5)	-46,82(7)
O(8)-V(2)-O(4)-V(3)	12,43(8)	V(1)-V(3)-O(12)-V(5)	46,69(7)
V(5)-V(2)-O(4)-V(3)	-36,51(7)	C(5)-C(1)-C(2)-N(2)	1,4(3)
V(4)#1-V(2)-O(4)-V(3)	11,86(11)	C(6)-C(1)-C(2)-N(2)	-179,0(2)
O(1)-V(1)-O(5)-V(3)	174,34(9)	N(2)-C(3)-C(4)-C(5)	1,8(4)
O(3)-V(1)-O(5)-V(3)	70,81(9)	C(3)-C(4)-C(5)-C(1)	-1,0(4)
O(6)-V(1)-O(5)-V(3)	-83,56(9)	C(2)-C(1)-C(5)-C(4)	-0,6(4)
O(13)-V(1)-O(5)-V(3)	-23,1(2)	C(6)-C(1)-C(5)-C(4)	179,8(2)
O(8)-V(1)-O(5)-V(3)	-8,01(8)	C(2)-C(1)-C(6)-O(1A)	-5,2(3)
V(4)-V(1)-O(5)-V(3)	-51,34(7)	C(5)-C(1)-C(6)-O(1A)	174,4(2)
V(5)-V(1)-O(5)-V(3)	40,82(7)	C(2)-C(1)-C(6)-N(1)	174,7(2)
O(10)-V(4)-O(6)-V(1)	-69,02(8)	C(5)-C(1)-C(6)-N(1)	-5,7(4)
O(11)-V(4)-O(6)-V(1)	-178,07(7)	C(4)-C(3)-N(2)-C(2)	-1,1(4)
O(13)#1-V(4)-O(6)-V(1)	57,27(17)	C(1)-C(2)-N(2)-C(3)	-0,5(3)
O(8)-V(4)-O(6)-V(1)	17,47(6)	C(11)-C(7)-C(8)-N(4)	1,2(4)
O(8)#1-V(4)-O(6)-V(1)	96,08(7)	C(12)-C(7)-C(8)-N(4)	-176,9(2)
V(3)-V(4)-O(6)-V(1)	-30,86(6)	N(4)-C(9)-C(10)-C(11)	1,3(4)
V(5)#1-V(4)-O(6)-V(1)	144,27(6)	C(9)-C(10)-C(11)-C(7)	-1,4(4)
V(2)#1-V(4)-O(6)-V(1)	113,00(9)	C(8)-C(7)-C(11)-C(10)	0,2(4)
O(10)-V(4)-O(6)-V(2)#1	177,97(7)	C(12)-C(7)-C(11)-C(10)	178,0(2)
O(11)-V(4)-O(6)-V(2)#	168,93(8)	C(8)-C(7)-C(12)-O(2A)	-12,1(3)
O(13)#1-V(4)-O(6)-V(2)#1	-55,73(17)	C(11)-C(7)-C(12)-O(2A)	170,1(2)
O(8)-V(4)-O(6)-V(2)#1	-95,53(7)	C(8)-C(7)-C(12)-N(3)	166,7(2)

O(8)#1-V(4)-O(6)-V(2)#1	-16,92(6)	C(11)-C(7)-C(12)-N(3)	-11,1(4)
V(3)-V(4)-O(6)-V(2)#1	-143,86(5)	C(7)-C(8)-N(4)-C(9)	-1,4(4)
V(5)#1-V(4)-O(6)-V(2)#1	31,26(6)	C(10)-C(9)-N(4)-C(8)	0,1(4)
V(1)-V(4)-O(6)-V(2)#1	-113,00(9)	C(17)-C(13)-C(14)-N(6)	1,2(4)
O(2)-V(2)-O(7)-V(5)	175,83(9)	C(18)-C(13)-C(14)-N(6)	-177,4(2)
O(4)-V(2)-O(7)-V(5)	72,50(9)	N(6)-C(15)-C(16)-C(17)	1,1(5)
O(6)#1-V(2)-O(7)-V(5)	-83,20(8)	C(14)-C(13)-C(17)-C(16)	0,1(4)
O(13)#1-V(2)-O(7)-V(5)	-22,7(2)	C(18)-C(13)-C(17)-C(16)	178,6(3)
O(8)-V(2)-O(7)-V(5)	-7,34(8)	C(15)-C(16)-C(17)-C(13)	-1,2(5)
V(3)-V(2)-O(7)-V(5)	41,76(7)	C(14)-C(13)-C(18)-O(3A)	-6,7(3)
V(4)#1-V(2)-O(7)-V(5)	-50,72(7)	C(17)-C(13)-C(18)-O(3A)	174,8(3)
O(11)-V(4)-O(10)-V(3)	-176,67(7)	C(14)-C(13)-C(18)-N(5)	173,2(2)
O(6)-V(4)-O(10)-V(3)	81,02(8)	C(17)-C(13)-C(18)-N(5)	-5,4(4)
O(13)#1-V(4)-O(10)-V(3)	-79,19(8)	C(16)-C(15)-N(6)-C(14)	0,2(4)
O(8)-V(4)-O(10)-V(3)	-0,21(7)	C(13)-C(14)-N(6)-C(15)	-1,4(4)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+1,-z+1

TABELA A7. LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO, EM ÂNGSTRONS E GRAUS.

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(13)-H(13)...N(2)#2	0,845(19)	1,719(19)	2,562(2)	174(4)
N(1)-H(1N1)...O(2)#3	0,77(3)	2,14(3)	2,873(3)	160(3)
N(1)-H(2N1)...O(1A)#4	0,78(4)	2,14(4)	2,902(3)	165(3)
N(4)-H(1N4)...O(3)	0,89(3)	1,74(3)	2,620(3)	169(3)
C(10)-H(10)...O(5)#2	0,87(3)	2,28(3)	3,082(3)	154(3)
N(3)-H(1N3)...O(3A)#5	0,82(3)	2,07(3)	2,863(3)	162(3)
N(3)-H(2N3)...O(18)#6	0,85(3)	2,11(4)	2,943(4)	168(3)
N(6)-H(1N6)...O(4)	0,864(18)	1,85(2)	2,695(3)	167(4)
N(5)-H(1N5)...O(2A)#7	0,79(4)	2,13(4)	2,828(3)	149(3)
N(5)-H(2N5)...O(1)#7	0,76(3)	2,22(3)	2,942(3)	158(3)
O(18)-H(18A)...O(12)	0,68(5)	2,13(5)	2,775(3)	160(6)
O(18)-H(18B)...O(7)#8	0,80(4)	2,28(5)	3,056(3)	166(4)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 $-x+1, -y+1, -z+1$
 #2 $x, y-1, z$ #3 $x+1/2, -y+3/2, z+1/2$ #4 $-x+3/2, y-1/2, -z+3/2$ #5 $x+1/2, -y+1/2, z+1/2$ #6
 $-x+3/2, -y+1/2, -z+1$ #7 $x, y+1, z$ #8 $x-1/2, -y+3/2, z-1/2$

Crystal structure analysis of $\{[C_5H_4NH-CONH_2]_4[H_2V_{10}O_{28}](C_5H_4N-CONH_2)_2\} \cdot 2(H_2O)$

Crystal data: $M = 1732.25$. Monoclinic, space group $C2/c$ (no. 15), $a = 25.8951(11)$ Å, $b = 9.5597(4)$ Å, $c = 23.8816(10)$ Å, $\beta = 107.278(2)^\circ$, $V = 5645.1(4)$ Å³. $Z = 4$, $D_c = 2.038$ mg m⁻³, $F(000) = 3456$, $T = 300(2)$ K, $\mu(Mo-K\alpha) = 1.690$ mm⁻¹, $\lambda(Mo-K\alpha) = 0.71073$ Å.

Crystals are yellow blocks. From a sample under oil, one, $ca\ 0.310 \times 0.234 \times 0.124$ mm, was mounted on a Micro-mount and fixed on a Bruker D8 Venture diffractometer, equipped with a Photon 100 CMOS detector, Mo-K α radiation and graphite monochromator. Intensity data were measured by thin-slice ω - and ϕ -scans. Total no. of reflections recorded, to $\theta_{max} = 27.5^\circ$, was 59393 of which 6469 were unique ($R_{int} = 0.051$); 5175 were 'observed' with $I > 2\sigma_I$.

Data were processed using the APEX3 (1) program. The structure was determined by the direct methods routines in the SHELXS program (2A) and refined by full-matrix least-squares methods, on F^2 's, in SHELXL (2B). The non-hydrogen atoms were refined with anisotropic thermal parameters. All hydrogen atoms were located in difference maps and were refined isotropically and freely (except for the H atoms bonded to O(13) and to N(6) where distance restraints were applied).

At the conclusion of the refinement, $wR_2 = 0.080$ and $R_1 = 0.046$ (2B) for all 6469 reflections weighted $w = [\sigma^2(F_o^2) + (0.0390P)^2 + 7.4259P]^{-1}$ with $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$; for the 'observed' data only, $R_1 = 0.030$.

In the final difference map, the highest peak ($ca\ 0.44\ e\text{\AA}^{-3}$) was near H(18B).

Scattering factors for neutral atoms were taken from reference (3). Computer programs used in this analysis have been noted above, and were run through WinGX (4) at the Universidade Federal do Paraná.

References

- (1) Program APEX3, Bruker AXS Inc., Madison, WI (2015).
- (2) G. M. Sheldrick, SHELX – Programs for crystal structure determination (SHELXS-2013) and refinement (SHELXL-2014), *Acta Cryst.* (2008) **A64**, 112-122 and (2015) **C71**, 3-8.

- (3) *'International Tables for X-ray Crystallography'*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (1992). Vol. C, pp. 500, 219 and 193.
- (4) L. J. Farrugia, (2012) *J. Appl. Cryst.* **45**, 849–854.

ANEXO 4

TABELA A1. DADOS CRISTALOGRAFICOS E REFINAMENTO DA ESTRUTURA PARA $[\text{NH}_3\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3]_4(\text{V}_{10}\text{H}_2\text{O}_{28})(\text{H}_2\text{O})_{10}$ (**TrisV₁₀**)

Código de identificação	JMM01_02as1	
Fórmula elementar	C ₁₆ H ₇₀ N ₄ O ₅₀ V ₁₀	
Massa/mol (g/mol)	1628,16	
Temperatura	100(2) K	
Comprimento de onda	0,71073 Å	
Sistema cristalino, grupo espacial	Triclínico, P-1	
Dimensões da célula unitária	a = 10,4309(7) Å	$\alpha = 76,258(3)^\circ$
	b = 11,0433(8) Å	$\beta = 71,873(3)^\circ$
	c = 13,5205(10) Å	$\gamma = 65,063(2)^\circ$
Volume	1331,90(17) Å ³	
Z, densidade calculada	1, 2,030 mg/m ³	
F(000)	824	
Coeficiente de absorção	1,797 mm ⁻¹	
Cor do cristal, formato	bloco laranja	
Tamanho do cristal	0,393 x 0,259 x 0,124 mm ³	
No difratômetro:		
Faixa de coleta de dados	3,028 a 27,5 °	
Índices limitantes	-13<=h<=13, -14<=k<=14, -17<=l<=17	
Compleitude para θ	25,2 °, 99,8 %	
Correção de absorção	Semi-empírica de equivalentes	
Transmissão máxima e mínima	0,7457 e 0,6310	
Reflexões coletadas / únicas	60077 / 6114 [R(int) = 0,0396]	
Número de reflexões "observadas" ($I > 2\sigma_I$)	5285	
Estrutura determinada por:	Métodos de fase intrínseca, em SHELXT	
Refinamento:	Matriz integral mínimos quadrados em F^2	
Dados / restrições / parâmetros	6114 / 19 / 461	
Qualidade de ajuste em F^2	1,066	
R (dados "observados")	$R_1 = 0,0241$, $wR_2 = 0,0581$	
R (todos os dados)	$R_1 = 0,0320$, $wR_2 = 0,0608$	
Reflexões ponderadas:	$w = [\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0,0268 \cdot P)^2 + 1,2693 \cdot P]^{-1}$ onde $P = (\text{Fo}^2 + 2\text{Fc}^2)/3$	
Coeficiente de extinção	n/a	
Maior diferença pico e buraco	0,430 e -0,327 e, Å ⁻³	
Localização do pico de maior diferença	próximo ao C1	

TABELA A2. COORDENADAS ATÔMICAS ($\times 10^5$) E PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ISOTRÓPICO EQUIVALENTES ($\text{\AA}^2 \times 10^4$). $U(\text{eq})$ É DEFINIDO COMO UM TERÇO DO TRAÇO DO TENSOR U_{ij} ORTOGONALIZADO.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
V(1)	68938(3)	36279(3)	26739(2)	70,7(7)
V(2)	54653(3)	33710(3)	50389(2)	44,5(6)
V(3)	78115(3)	47054(3)	41642(2)	55,8(7)
V(4)	60191(3)	66831(3)	26060(2)	61,9(7)
V(5)	36082(3)	54764(3)	34890(2)	64,7(7)
O(1)	77191(13)	25672(12)	18476(10)	110(2)
O(2)	56122(12)	50629(11)	39796(9)	63(2)
O(3)	71355(12)	34682(11)	53162(9)	57(2)
O(4)	75985(12)	61775(12)	31815(9)	70(2)
O(5)	41537(12)	67478(12)	26103(9)	76(2)
O(6)	35784(12)	40741(12)	47493(9)	59(2)
O(12)	63927(12)	24502(11)	40303(9)	69(2)
O(13)	83749(12)	35130(12)	32338(9)	72(2)
O(14)	68841(12)	52201(12)	18732(9)	74(2)
O(15)	49043(13)	40815(12)	26854(10)	78(2)
O(22)	51405(12)	23066(12)	61250(9)	76(2)
O(33)	93278(12)	44332(12)	44188(9)	87(2)
O(44)	61865(13)	78744(12)	17061(9)	100(2)
O(55)	20811(13)	57561(12)	32470(9)	90(2)
C(1)	16011(18)	13216(16)	58683(13)	77(3)
C(2)	31561(18)	10719(17)	52239(14)	101(3)
O(2C)	32012(14)	19707(13)	42702(10)	122(3)
C(3)	15890(20)	4723(18)	69414(14)	114(3)
O(3C)	20242(15)	9722(14)	76085(11)	144(3)
C(4)	7368(19)	10278(18)	52926(14)	104(3)
O(4C)	-7213(14)	12876(13)	58978(11)	122(3)
N(1)	8929(17)	27717(15)	60394(13)	82(3)
C(5)	18185(19)	45452(18)	10795(14)	106(3)
C(6)	28330(20)	52890(20)	8640(15)	167(4)
O(6C)	42901(16)	43871(17)	8147(12)	214(3)
C(7)	2773(19)	55782(18)	10915(14)	129(4)
O(7C)	1764(15)	63970(14)	1048(10)	150(3)
C(8)	18415(19)	36031(18)	21122(14)	115(3)
O(8C)	11541(14)	27029(13)	21673(10)	127(3)
N(2)	23112(17)	36952(17)	2152(12)	114(3)
O(1W)	51852(17)	88141(17)	95656(13)	244(3)
O(2W)	-2520(17)	12933(15)	94034(12)	209(3)
O(3W)	49967(16)	-4992(15)	74311(12)	184(3)
O(4W)	75063(17)	99(16)	74207(13)	247(3)
O(5W)	72013(17)	15543(17)	89141(13)	242(3)

TABELA A3. DIMENSÕES MOLECULARES. OS COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO ESTÃO EM ÂNGSTROMS, ÂNGULOS EM GRAUS. E.S.DS ESTÃO EM PARÊNTESES.

V(1)-O(1)	1,5919(12)	O(6)-V(3)#1	2,0110(12)
V(1)-O(14)	1,8306(12)	O(15)-H(15)	0,82(2)
V(1)-O(13)	1,8688(12)	O(22)-V(4)#1	2,0326(12)
V(1)-O(15)	1,9144(12)	C(1)-N(1)	1,495(2)
V(1)-O(12)	2,0424(12)	C(1)-C(2)	1,524(2)
V(1)-O(2)	2,3428(12)	C(1)-C(4)	1,526(2)
V(1)-V(2)	3,0799(4)	C(1)-C(3)	1,529(2)
V(1)-V(4)	3,0877(5)	C(2)-O(2C)	1,430(2)
V(1)-V(3)	3,1132(4)	O(2C)-H(2C)	0,780(16)
V(2)-O(12)	1,6846(12)	C(3)-O(3C)	1,424(2)
V(2)-O(22)	1,6909(12)	O(3C)-H(3C)	0,795(19)
V(2)-O(6)	1,9175(12)	C(4)-O(4C)	1,426(2)
V(2)-O(3)	1,9418(11)	O(4C)-H(4C)	0,765(16)
V(2)-O(2)	2,0974(12)	N(1)-H(1N1)	0,84(2)
V(2)-O(2)#1	2,1305(12)	N(1)-H(2N1)	0,92(2)
V(2)-V(4)#1	3,0757(4)	N(1)-H(3N1)	0,88(2)
V(3)-O(33)	1,6122(12)	C(5)-N(2)	1,500(2)
V(3)-O(4)	1,8194(12)	C(5)-C(6)	1,518(2)
V(3)-O(13)	1,8266(12)	C(5)-C(7)	1,527(2)
V(3)-O(3)	1,9768(12)	C(5)-C(8)	1,530(2)
V(3)-O(6)#1	2,0110(12)	C(6)-O(6C)	1,414(2)
V(3)-O(2)	2,2420(11)	O(6C)-H(6C1)	0,797(17)
V(3)-V(5)#1	3,0537(4)	O(6C)-H(6C2)	0,836(19)
V(3)-V(4)	3,0864(4)	C(7)-O(7C)	1,429(2)

V(4)-O(44)	1,5946(12)	O(7C)-H(7C)	0,834(18)
V(4)-O(14)	1,8389(12)	C(8)-O(8C)	1,429(2)
V(4)-O(4)	1,8566(12)	O(8C)-H(8C)	0,801(17)
V(4)-O(5)	1,9150(12)	N(2)-H(1N2)	0,92(3)
V(4)-O(22)#1	2,0326(12)	N(2)-H(2N2)	0,90(3)
V(4)-O(2)	2,3242(12)	N(2)-H(3N2)	0,89(3)
V(4)-V(2)#1	3,0758(4)	O(1W)-H(1W1)	0,84(2)
V(4)-V(5)	3,1189(4)	O(1W)-H(2W1)	0,809(18)
V(5)-O(55)	1,6129(12)	O(2W)-H(1W2)	0,845(19)
V(5)-O(5)	1,7796(12)	O(2W)-H(2W2)	0,865(18)
V(5)-O(15)	1,8725(12)	O(2W)-H(3W2)	0,83(2)
V(5)-O(3)#1	1,9804(12)	O(3W)-H(1W3)	0,789(18)
V(5)-O(6)	2,0141(12)	O(3W)-H(2W3)	0,815(19)
V(5)-O(2)	2,2208(11)	O(4W)-H(1W4)	0,875(18)
V(5)-V(3)#1	3,0537(4)	O(4W)-H(2W4)	0,875(18)
O(2)-V(2)#1	2,1305(12)	O(5W)-H(1W5)	0,837(18)
O(3)-V(5)#1	1,9804(12)	O(5W)-H(2W5)	0,85(2)
O(1)-V(1)-O(14)	103,24(6)	V(2)-O(2)-V(2)#1	102,27(5)
O(1)-V(1)-O(13)	103,36(6)	V(2)-O(2)-V(5)	93,89(4)
O(14)-V(1)-O(13)	91,45(5)	V(2)#1-O(2)-V(5)	92,92(4)
O(1)-V(1)-O(15)	101,27(6)	V(2)-O(2)-V(3)	93,33(4)
O(14)-V(1)-O(15)	91,29(5)	V(2)#1-O(2)-V(3)	92,78(4)
O(13)-V(1)-O(15)	153,88(5)	V(5)-O(2)-V(3)	169,65(6)
O(1)-V(1)-O(12)	102,10(6)	V(2)-O(2)-V(4)	170,45(6)
O(14)-V(1)-O(12)	154,63(5)	V(2)#1-O(2)-V(4)	87,22(4)

O(13)-V(1)-O(12)	84,05(5)	V(5)-O(2)-V(4)	86,63(4)
O(15)-V(1)-O(12)	82,42(5)	V(3)-O(2)-V(4)	85,03(4)
O(1)-V(1)-O(2)	175,50(6)	V(2)-O(2)-V(1)	87,65(4)
O(14)-V(1)-O(2)	81,08(5)	V(2)#1-O(2)-V(1)	170,02(6)
O(13)-V(1)-O(2)	77,62(5)	V(5)-O(2)-V(1)	87,39(4)
O(15)-V(1)-O(2)	77,17(5)	V(3)-O(2)-V(1)	85,50(4)
O(12)-V(1)-O(2)	73,56(4)	V(4)-O(2)-V(1)	82,84(4)
O(12)-V(2)-O(22)	107,52(6)	V(2)-O(3)-V(3)	107,38(5)
O(12)-V(2)-O(6)	97,81(5)	V(2)-O(3)-V(5)#1	107,09(5)
O(22)-V(2)-O(6)	97,69(5)	V(3)-O(3)-V(5)#1	101,01(5)
O(12)-V(2)-O(3)	96,85(5)	V(3)-O(4)-V(4)	114,19(6)
O(22)-V(2)-O(3)	96,22(5)	V(5)-O(5)-V(4)	115,11(6)
O(6)-V(2)-O(3)	155,72(5)	V(2)-O(6)-V(3)#1	107,42(5)
O(12)-V(2)-O(2)	87,69(5)	V(2)-O(6)-V(5)	106,77(5)
O(22)-V(2)-O(2)	164,74(5)	V(3)#1-O(6)-V(5)	98,69(5)
O(6)-V(2)-O(2)	80,99(5)	V(2)-O(12)-V(1)	111,09(6)
O(3)-V(2)-O(2)	80,37(5)	V(3)-O(13)-V(1)	114,80(6)
O(12)-V(2)-O(2)#1	165,39(5)	V(1)-O(14)-V(4)	114,59(6)
O(22)-V(2)-O(2)#1	87,04(5)	V(5)-O(15)-V(1)	112,77(6)
O(6)-V(2)-O(2)#1	80,98(5)	V(5)-O(15)-H(15)	111(4)
O(3)-V(2)-O(2)#1	79,96(5)	V(1)-O(15)-H(15)	116(4)
O(2)-V(2)-O(2)#1	77,73(5)	V(2)-O(22)-V(4)#1	111,05(6)
O(33)-V(3)-O(4)	102,50(6)	N(1)-C(1)-C(2)	107,61(14)
O(33)-V(3)-O(13)	102,44(6)	N(1)-C(1)-C(4)	108,96(14)
O(4)-V(3)-O(13)	95,18(5)	C(2)-C(1)-C(4)	111,23(14)
O(33)-V(3)-O(3)	99,43(6)	N(1)-C(1)-C(3)	108,03(14)
O(4)-V(3)-O(3)	155,49(5)	C(2)-C(1)-C(3)	110,91(14)

O(13)-V(3)-O(3)	90,63(5)	C(4)-C(1)-C(3)	109,99(14)
O(33)-V(3)-O(6)#1	99,53(5)	O(2C)-C(2)-C(1)	111,96(14)
O(4)-V(3)-O(6)#1	88,73(5)	C(2)-O(2C)-H(2C)	109,2(18)
O(13)-V(3)-O(6)#1	156,25(5)	O(3C)-C(3)-C(1)	111,37(14)
O(3)-V(3)-O(6)#1	76,91(5)	C(3)-O(3C)-H(3C)	113(3)
O(33)-V(3)-O(2)	174,41(5)	O(4C)-C(4)-C(1)	110,52(14)
O(4)-V(3)-O(2)	81,28(5)	C(4)-O(4C)-H(4C)	110,5(17)
O(13)-V(3)-O(2)	81,15(5)	C(1)-N(1)-H(1N1)	112,7(16)
O(3)-V(3)-O(2)	76,11(4)	C(1)-N(1)-H(2N1)	111,1(14)
O(6)#1-V(3)-O(2)	76,30(4)	H(1N1)-N(1)-H(2N1)	106(2)
O(44)-V(4)-O(14)	102,18(6)	C(1)-N(1)-H(3N1)	110,1(14)
O(44)-V(4)-O(4)	103,64(6)	H(1N1)-N(1)-H(3N1)	108(2)
O(14)-V(4)-O(4)	92,91(5)	H(2N1)-N(1)-H(3N1)	109(2)
O(44)-V(4)-O(5)	101,50(6)	N(2)-C(5)-C(6)	108,46(15)
O(14)-V(4)-O(5)	89,05(5)	N(2)-C(5)-C(7)	109,53(14)
O(4)-V(4)-O(5)	153,76(5)	C(6)-C(5)-C(7)	108,64(15)
O(44)-V(4)-O(22)#1	101,66(6)	N(2)-C(5)-C(8)	107,37(15)
O(14)-V(4)-O(22)#1	155,91(5)	C(6)-C(5)-C(8)	112,51(15)
O(4)-V(4)-O(22)#1	84,77(5)	C(7)-C(5)-C(8)	110,28(14)
O(5)-V(4)-O(22)#1	82,90(5)	O(6C)-C(6)-C(5)	111,56(16)
O(44)-V(4)-O(2)	175,72(5)	C(6)-O(6C)-H(6C1)	131(2)
O(14)-V(4)-O(2)	81,43(5)	C(6)-O(6C)-H(6C2)	106(4)
O(4)-V(4)-O(2)	78,31(5)	H(6C1)-O(6C)-H(6C2)	108(4)
O(5)-V(4)-O(2)	76,12(5)	O(7C)-C(7)-C(5)	112,19(14)
O(22)#1-V(4)-O(2)	74,61(4)	C(7)-O(7C)-H(7C)	114(2)
O(55)-V(5)-O(5)	102,44(6)	O(8C)-C(8)-C(5)	110,52(14)
O(55)-V(5)-O(15)	101,89(6)	C(8)-O(8C)-H(8C)	112,0(19)

O(5)-V(5)-O(15)	95,02(6)	C(5)-N(2)-H(1N2)	112,6(16)
O(55)-V(5)-O(3)#1	99,19(5)	C(5)-N(2)-H(2N2)	112,3(16)
O(5)-V(5)-O(3)#1	91,98(5)	H(1N2)-N(2)-H(2N2)	104(2)
O(15)-V(5)-O(3)#1	155,76(5)	C(5)-N(2)-H(3N2)	112,3(16)
O(55)-V(5)-O(6)	99,68(6)	H(1N2)-N(2)-H(3N2)	107(2)
O(5)-V(5)-O(6)	156,54(5)	H(2N2)-N(2)-H(3N2)	108(2)
O(15)-V(5)-O(6)	87,98(5)	H(1W1)-O(1W)-H(2W1)	116(5)
O(3)#1-V(5)-O(6)	76,76(5)	H(1W2)-O(2W)-H(2W2)	119(4)
O(55)-V(5)-O(2)	174,67(5)	H(1W2)-O(2W)-H(3W2)	97(5)
O(5)-V(5)-O(2)	81,52(5)	H(2W2)-O(2W)-H(3W2)	103(5)
O(15)-V(5)-O(2)	81,17(5)	H(1W3)-O(3W)-H(2W3)	108(4)
O(3)#1-V(5)-O(2)	76,95(4)	H(1W4)-O(4W)-H(2W4)	110(3)
O(6)-V(5)-O(2)	75,95(4)	H(1W5)-O(5W)-H(2W5)	102(5)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+1,-z+1

TABELA A4. PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ANISOTRÓPICO ($\text{\AA}^2 \times 10^4$) PARA A EXPRESSÃO: $\exp\{-2\pi^2(h^2a^{*2}U_{11}+\dots+2hka^*b^*U_{12})\}$. E.S.DS ESTÃO EM PARÊNTESES.

	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂
V(1)	90,6(14)	70,1(14)	47,0(14)	18,0(11)	3,7(11)	-34,8(11)
V(2)	48,9(13)	44,7(13)	40,0(13)	-5,5(10)	-7,1(10)	-20,1(10)
V(3)	45,5(13)	74,0(14)	49,1(14)	-6,6(11)	-5,8(10)	-28,0(11)
V(4)	74,8(13)	67,8(14)	40,4(13)	-0,4(10)	-8,1(10)	-31,8(11)
V(5)	54,8(13)	96,8(14)	46,5(14)	-6,0(11)	-16,7(10)	-30,7(11)
O(1)	137(6)	99(6)	84(6)	-27(5)	-6(5)	-41(5)
O(2)	56(5)	68(6)	66(6)	-10(5)	-9(4)	-26(4)
O(3)	53(5)	63(5)	52(6)	-8(4)	-10(4)	-21(4)
O(4)	74(5)	87(6)	56(6)	-10(4)	-8(4)	-40(5)
O(5)	77(5)	87(6)	57(6)	-1(5)	-17(4)	-26(5)
O(6)	62(5)	62(5)	61(6)	-12(4)	-15(4)	-29(4)
O(12)	74(5)	59(6)	68(6)	-6(4)	-15(4)	-23(4)
O(13)	67(5)	85(6)	63(6)	-20(5)	-3(4)	-30(5)
O(14)	77(5)	91(6)	52(6)	-2(5)	-11(4)	-38(5)

O(15)	78(6)	103(6)	58(6)	-26(5)	-11(4)	-35(5)
O(22)	86(6)	72(6)	72(6)	-3(5)	-22(5)	-33(5)
O(33)	69(5)	109(6)	86(6)	-10(5)	-16(5)	-38(5)
O(44)	133(6)	99(6)	70(6)	4(5)	-19(5)	-56(5)
O(55)	74(6)	127(6)	78(6)	-25(5)	-24(5)	-34(5)
C(1)	87(8)	44(8)	97(8)	-21(6)	-24(6)	-16(6)
C(2)	86(8)	96(8)	110(8)	-17(7)	-16(6)	-28(6)
O(2C)	170(6)	126(6)	100(6)	-19(5)	-10(5)	-99(5)
C(3)	146(8)	87(8)	116(9)	2(7)	-43(7)	-50(7)
O(3C)	172(7)	168(7)	126(7)	3(5)	-81(5)	-75(6)
C(4)	111(8)	97(8)	123(9)	-35(7)	-34(7)	-41(7)
O(4C)	80(6)	99(6)	182(7)	21(5)	-56(5)	-32(5)
N(1)	76(7)	68(7)	107(8)	-23(6)	-32(6)	-18(6)
C(5)	125(8)	154(9)	56(8)	-8(7)	-19(6)	-72(7)
C(6)	191(9)	268(11)	97(9)	1(8)	-34(7)	-152(8)
O(6C)	161(7)	348(10)	159(8)	5(7)	-38(6)	-139(7)
C(7)	142(9)	142(9)	88(8)	-4(7)	-24(7)	-47(7)
O(7C)	180(7)	160(7)	123(7)	25(5)	-66(5)	-78(6)
C(8)	112(8)	159(9)	80(8)	3(7)	-20(6)	-69(7)
O(8C)	95(6)	125(6)	135(7)	-16(5)	10(5)	-45(5)
N(2)	98(7)	164(8)	63(7)	-15(6)	-3(6)	-44(7)
O(1W)	247(8)	276(8)	44(8)	-11(6)	-53(6)	-40(7)
O(2W)	206(8)	205(8)	214(8)	-27(6)	-62(6)	-64(6)
O(3W)	181(7)	205(8)	176(7)	-73(6)	-30(6)	-66(6)
O(4W)	268(8)	171(8)	269(9)	1(6)	-40(7)	-85(7)
O(5W)	265(8)	223(8)	226(8)	51(7)	-128(7)	-73(7)

TABELA A5. COORDENADAS DE HIDROGÊNIO ($\times 10^4$) E PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ISOTRÓPICO ($\text{\AA}^2 \times 10^3$). OS ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO LIGADOS AO ÁTOMO DE NITROGÊNIO DO CÁTION 1,3-DI-HIDROXI-2-(HIDROXIMETIL)PROPAN-2-AMÔNIA E ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO DAS ÁGUAS E DO DECAVANADATO FORMA LOCALIZADOS EM MAPAS DE DIFERENÇA E FORAM REFINADOS LIVREMENTE. TODOS OS OUTROS ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO FORAM INCLUÍDOS EM POSIÇÕES IDEALIZADAS COM OS $U(\text{iso})$ AJUSTADOS A $1,2 \cdot U(\text{eq})$ DOS ÁTOMOS DE CARBONO.

	x	y	z	$U(\text{iso})$
H(2C)	3360(20)	2570(20)	4348(18)	17(6)
H(3C)	2850(20)	570(40)	7640(40)	105(16)
H(4C)	-1250(20)	1907(18)	5640(16)	10(5)
H(6C1)	4660(30)	3592(18)	820(20)	13(7)
H(6C2)	4800(50)	4730(50)	320(30)	29(15)
H(7C)	200(40)	7150(20)	80(30)	61(11)
H(8C)	313(19)	2980(30)	2470(20)	32(7)
H(15)	4730(70)	4220(60)	2110(30)	180(30)
H(2A)	3713	1186	5645	12

H(2B)	3628	133	5057	12
H(3A)	596	479	7274	14
H(3B)	2257	-470	6850	14
H(4A)	727	1599	4607	12
H(4B)	1211	74	5161	12
H(1N1)	10(30)	2990(20)	6357(18)	15(6)
H(2N1)	910(20)	3320(20)	5410(20)	18(6)
H(3N1)	1350(20)	2950(20)	6403(18)	15(6)
H(6A)	2775	5884	191	20
H(6B)	2515	5860	1426	20
H(7A)	-400	5103	1270	15
H(7B)	-25	6162	1643	15
H(8A)	2861	3080	2165	14
H(8B)	1328	4141	2708	14
H(1N2)	1620(30)	3380(30)	210(20)	27(7)
H(2N2)	3100(30)	2950(30)	283(19)	24(6)
H(3N2)	2510(30)	4140(20)	-410(20)	23(6)
H(1W1)	4470(40)	8680(60)	9990(40)	170(30)
H(2W1)	5150(40)	9000(30)	8957(16)	55(10)
H(1W2)	520(30)	1110(50)	8920(30)	40(13)
H(2W2)	-1050(30)	1390(40)	9270(30)	82(13)
H(3W2)	-30(70)	540(30)	9770(40)	22(16)
H(1W3)	5390(30)	-1050(30)	7040(20)	54(10)
H(2W3)	5500(40)	-60(40)	7320(40)	114(18)
H(1W4)	8030(30)	370(30)	6895(19)	50(9)
H(2W4)	7960(30)	-863(18)	7520(20)	48(9)
H(1W5)	6780(40)	2240(30)	8540(30)	74(12)
H(2W5)	7290(80)	930(60)	8600(60)	140(30)

TABELA A6. ÂNGULOS DE TORÇÃO EM GRAUS. E.S.DS ESTÃO EM PARÊNTESES.

O(6)#1-V(3)-O(4)-V(4)	-86.12(6)
O(2)-V(3)-O(4)-V(4)	-9.79(6)
O(44)-V(4)-O(4)-V(3)	-174.38(7)
O(14)-V(4)-O(4)-V(3)	-71.09(7)
O(5)-V(4)-O(4)-V(3)	22.67(15)
O(22)#1-V(4)-O(4)-V(3)	84.86(7)
O(2)-V(4)-O(4)-V(3)	9.53(6)
V(2)#1-V(4)-O(4)-V(3)	54.24(5)
O(55)-V(5)-O(5)-V(4)	-176.55(6)
O(15)-V(5)-O(5)-V(4)	-73.19(7)
O(3)#1-V(5)-O(5)-V(4)	83.59(7)
O(6)-V(5)-O(5)-V(4)	23.33(17)
O(2)-V(5)-O(5)-V(4)	7.09(6)
O(22)-V(2)-O(12)-V(1)	-178.60(5)
O(6)-V(2)-O(12)-V(1)	80.74(6)

O(3)-V(2)-O(12)-V(1)	-79.84(6)
O(2)-V(2)-O(12)-V(1)	0.17(6)
O(2)#1-V(2)-O(12)-V(1)	-3.4(2)
V(4)#1-V(2)-O(12)-V(1)	-179.99(2)
O(33)-V(3)-O(13)-V(1)	-175.61(7)
O(4)-V(3)-O(13)-V(1)	-71.57(7)
O(3)-V(3)-O(13)-V(1)	84.59(7)
O(6)#1-V(3)-O(13)-V(1)	27.09(17)
O(2)-V(3)-O(13)-V(1)	8.75(6)
V(5)#1-V(3)-O(13)-V(1)	84.04(7)
V(4)-V(3)-O(13)-V(1)	-40.24(6)
O(1)-V(1)-O(13)-V(3)	176.04(7)
O(14)-V(1)-O(13)-V(3)	72.07(7)
O(15)-V(1)-O(13)-V(3)	-23.83(16)
O(12)-V(1)-O(13)-V(3)	-82.90(7)
O(2)-V(1)-O(13)-V(3)	-8.47(6)
O(1)-V(1)-O(14)-V(4)	-179.01(7)
O(13)-V(1)-O(14)-V(4)	-74.93(7)
O(15)-V(1)-O(14)-V(4)	79.09(7)
O(12)-V(1)-O(14)-V(4)	4.19(16)
O(2)-V(1)-O(14)-V(4)	2.30(6)
O(44)-V(4)-O(14)-V(1)	-179.97(7)
O(4)-V(4)-O(14)-V(1)	75.40(7)
O(5)-V(4)-O(14)-V(1)	-78.41(7)
O(22)#1-V(4)-O(14)-V(1)	-8.29(16)
O(2)-V(4)-O(14)-V(1)	-2.31(6)
O(55)-V(5)-O(15)-V(1)	173.55(7)
O(5)-V(5)-O(15)-V(1)	69.70(7)
O(3)#1-V(5)-O(15)-V(1)	-36.53(16)
O(6)-V(5)-O(15)-V(1)	-86.98(7)
O(2)-V(5)-O(15)-V(1)	-10.90(6)
O(12)-V(2)-O(22)-V(4)#1	-178.73(6)
O(6)-V(2)-O(22)-V(4)#1	-77.99(6)
O(3)-V(2)-O(22)-V(4)#1	82.06(6)
O(2)-V(2)-O(22)-V(4)#1	6.0(2)
O(2)#1-V(2)-O(22)-V(4)#1	2.49(6)
N(1)-C(1)-C(2)-O(2C)	-54.96(18)
C(4)-C(1)-C(2)-O(2C)	64.32(18)
C(3)-C(1)-C(2)-O(2C)	-172.92(14)
N(1)-C(1)-C(3)-O(3C)	-45.11(18)
C(2)-C(1)-C(3)-O(3C)	72.61(18)
C(4)-C(1)-C(3)-O(3C)	-163.93(14)
N(1)-C(1)-C(4)-O(4C)	-60.56(18)
C(2)-C(1)-C(4)-O(4C)	-179.03(14)
C(3)-C(1)-C(4)-O(4C)	57.69(18)
N(2)-C(5)-C(6)-O(6C)	-59.45(19)
C(7)-C(5)-C(6)-O(6C)	-178.44(15)
C(8)-C(5)-C(6)-O(6C)	59.2(2)
N(2)-C(5)-C(7)-O(7C)	-56.40(19)
C(6)-C(5)-C(7)-O(7C)	61.91(19)

C(8)-C(5)-C(7)-O(7C)	-174.35(14)
N(2)-C(5)-C(8)-O(8C)	-47.18(18)
C(6)-C(5)-C(8)-O(8C)	-166.44(15)
C(7)-C(5)-C(8)-O(8C)	72.10(18)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+1,-z+1

TABELA A7. LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO, EM ÂNGSTRONS E GRAUS.

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(3C)-H(3C)...O(3W)	0.795(19)	2.00(2)	2.790(2)	169(5)
O(4C)-H(4C)...O(3)#2	0.765(16)	1.909(16)	2.6589(17)	167(2)
O(6C)-H(6C2)...O(6C)#3	0.836(19)	1.84(2)	2.669(3)	173(6)
O(7C)-H(7C)...O(2W)#4	0.834(18)	2.03(2)	2.822(2)	158(3)
O(8C)-H(8C)...O(13)#2	0.801(17)	1.867(17)	2.6661(17)	176(3)
O(15)-H(15)...O(6C)	0.82(2)	1.89(2)	2.7096(19)	175(6)
C(3)-H(3B)...O(12)#5	0.99	2.40	3.337(2)	157.0
N(1)-H(1N1)...O(55)#4	0.84(2)	2.01(2)	2.7978(19)	156(2)
N(1)-H(3N1)...O(4)#1	0.88(2)	2.00(2)	2.8434(19)	161(2)
N(2)-H(1N2)...O(7C)#6	0.92(3)	1.95(3)	2.806(2)	153(2)
N(2)-H(2N2)...O(1W)#1	0.90(3)	2.03(3)	2.928(2)	176(2)
N(2)-H(3N2)...O(14)#3	0.89(3)	1.93(3)	2.807(2)	169(2)
O(2W)-H(1W2)...O(3C)	0.845(19)	1.96(2)	2.787(2)	167(5)
O(2W)-H(2W2)...O(5W)#2	0.865(18)	1.953(19)	2.817(2)	177(4)
O(2W)-H(3W2)...O(2W)#7	0.83(2)	2.02(2)	2.848(3)	171(6)
O(3W)-H(1W3)...O(2C)#5	0.789(18)	2.08(2)	2.824(2)	158(3)
O(3W)-H(2W3)...O(4W)	0.815(19)	2.17(3)	2.895(2)	148(5)
O(4W)-H(1W4)...O(4C)#8	0.875(18)	1.980(19)	2.846(2)	170(3)
O(4W)-H(2W4)...O(8C)#5	0.875(18)	1.847(18)	2.720(2)	175(3)
O(5W)-H(1W5)...O(5)#1	0.837(18)	1.95(2)	2.7391(19)	156(4)
O(5W)-H(2W5)...O(4W)	0.85(2)	2.00(4)	2.805(2)	158(7)
O(1W)-H(1W1)...O(5W)#9	0.84(2)	1.97(2)	2.804(2)	175(6)
O(1W)-H(2W1)...O(3W)#10	0.809(18)	2.042(18)	2.851(2)	179(3)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+1,-z+1
 #2 x-1,y,z #3 -x+1,-y+1,-z #4 -x,-y+1,-z+1 #5 -x+1,-y,-z+1 #6 -x,-y+1,-z #7 -x,-y,-z+2
 #8 x+1,y,z #9 -x+1,-y+1,-z+2 #10 x,y+1,z

Crystal structure analysis of $[\text{NH}_3\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3]_4, (\text{V}_{10}\text{H}_2\text{O}_{28}), (\text{H}_2\text{O})_{10}$

Crystal data: $[\text{NH}_3\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3]_4, (\text{V}_{10}\text{H}_2\text{O}_{28}), (\text{H}_2\text{O})_{10}$, $M = 1628.16$ Triclinic, space group P-1 (no.2), $a = 10.4309(7) \text{ \AA}$, $b = 11.0433(8) \text{ \AA}$, $c = 13.5202(10) \text{ \AA}$, $\alpha = 76.258(3)^\circ$, $\beta = 71.873(3)^\circ$, $\gamma = 65.063(2)^\circ$, $V = 1331.90(17) \text{ \AA}^3$. $Z = 1$, $D_c = 2.030 \text{ g cm}^{-3}$, $F(000) = 824$, $T = 100(2) \text{ K}$, $\mu(\text{Mo-K}\alpha) = 1.797 \text{ mm}^{-1}$, $\lambda(\text{Mo-K}\alpha) = 0.71073 \text{ \AA}$.

Crystals are light orange blocks. From a sample under oil, one, ca $0.393 \times 0.259 \times 0.124 \text{ mm}^3$, was mounted on a Micro-mount/mesh and fixed in the cold

nitrogen stream on a Bruker D8 Venture diffractometer, equipped with a Photon 100 CMOS detector, Mo-K α radiation and graphite monochromator. Intensity data were measured by thin-slice ω - and ϕ -scans. Total no. of reflections recorded, to $\theta_{\max} = 27.5^\circ$, was 60077 of which 6114 were unique ($R_{\text{int}} = 0.0396$); 5285 were 'observed' with $I > 2\sigma_I$.

Data were processed using the APEX2 (1) program. The structure was determined by the intrinsic phasing methods routines in the SHELXT program (2A) and refined by full-matrix least-squares methods, on F^2 's, in SHELXL (2B). The hydrogens atoms bound to the nitrogen atom of the 1,3-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)propan-2-ammonia cation and water and decavanadate hydrogens atoms were located in difference maps and were refined freely. All other hydrogen atoms were included in idealised positions and their Uiso values were set to ride on the Ueq values of the parent carbon atoms. At the conclusion of the refinement, $wR_2 = 0.0608$ and $R_1 = 0.0320$ (2B) for all 6114 reflections weighted $w = [\sigma^2(F_o^2) + (0.0268P)^2 + 1.2693P]^{-1}$ with $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$; for the 'observed' data only, $R_1 = 0.0241$.

In the final difference map, the highest peak (ca 0.43 eÅ⁻³) was close to C1.

Scattering factors for neutral atoms were taken from reference (3). Computer programs used in this analysis have been noted above, and were run through WinGX (4) at the Universidade Federal do Paraná.

References

- (1) Program APEX2, Bruker AXS Inc., Madison, WI (2010).
- (2) G. M. Sheldrick, SHELX – Programs for crystal structure determination (SHELXS-2013) and refinement (SHELXL-2014), *Acta Cryst.* (2008) **A64**, 112-122.
- (3) '*International Tables for X-ray Crystallography*', Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (1992). Vol. C, pp. 500, 219 and 193.
- (4) L. J. Farrugia, (2012) *J. Appl. Cryst.* **45**, 849–854.

ANEXO 5

TABELA A1. DADOS CRISTALOGRAFICOS E REFINAMENTO DA ESTRUTURA PARA $[\mu_2-(C_8H_{10}NO_3)_2(VO_2)_2]$ (**PirV₂**)

Código de identificação	JMM01_95a	
Fórmula elementar	C16 H20 N2 O10 V2	
Massa/mol (g/mol)	502,22	
Temperatura	100(2) K	
Comprimento de onda	0,71073 Å	
Sistema cristalino, grupo espacial	Triclínico, P-1	
Dimensões da célula unitária	a = 6,8719(4) Å ° b = 8,6381(5) Å c = 8,6481(5) Å °	$\alpha = 113,382(2)^\circ$ $\beta = 91,615(2)^\circ$ $\gamma = 102,239(2)^\circ$
Volume	456,86(5) Å ³	
Z, densidade calculada	1, 1,825 mg/m ³	
F(000)	256	
Coeficiente de absorção	1,086 mm ⁻¹	
Cor do cristal, formato	placa verde	
Tamanho do cristal	0,245 x 0,162 x 0,073 mm	
No difratômetro:		
Faixa de coleta de dados	3,057 a 27,5 °	
Índices limitantes	-9<=h<=9, -12<=k<=12, -12<=l<=12	
Completude para θ	25,2 °, 99,8 %	
Correção de absorção	Semi-empírica de equivalentes	
Transmissão máxima e mínima	0,7470 e 0,6949	
Reflexões coletadas / únicas	32330 / 2670 [R(int) = 0,0285]	
Número de reflexões "observadas" ($I > 2\sigma_I$)	2481	
Estrutura determinada por:	Métodos diretos, em SHELXS	
Refinamento:	Matriz integral mínimos quadrados em F ²	
Dados / restrições / parâmetros	2670 / 0 / 176	
Qualidade de ajuste em F ²	1,121	
R (dados "observados")	R ₁ = 0,0234, wR ₂ = 0,0634	
R (todos os dados)	R ₁ = 0,0263, wR ₂ = 0,0644	
Reflexões ponderadas:	w = $[\sigma^2(F_o^2) + (0,0334 \cdot P)^2 + 0,248 \cdot P]^{-1}$ onde P = $(F_o^2 + 2F_c^2)/3$	
Coeficiente de extinção	n/a	
Maior diferença pico e buraco	0,569 e -0,273 e Å ⁻³	
Localização do pico de maior diferença	na ligação C1-C2	

TABELA A2. COORDENADAS ATÔMICAS ($\times 10^5$) E PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ISOTRÓPICO EQUIVALENTES ($\text{\AA}^2 \times 10^4$). U(eq) É DEFINIDO COMO UM TERÇO DO TRAÇO DO TENSOR U_{ij} ORTOGONALIZADO.

	x	y	z	U(eq)
V(1)	38370(3)	94294(2)	31137(2)	76.6(7)
O(1)	53463(14)	99083(12)	18859(12)	148(2)
O(2)	25354(14)	73827(11)	21489(11)	131(2)
O(3)	41348(14)	110528(11)	55546(11)	112(2)
O(4)	17445(13)	105396(11)	29080(11)	108(2)
O(5)	15556(14)	153168(12)	87964(12)	129(2)
C(1)	18305(17)	131641(15)	26310(15)	91(2)
C(2)	20253(17)	122515(15)	36411(15)	87(2)
C(3)	25024(17)	131729(15)	54096(15)	86(2)
C(4)	27135(17)	149764(15)	61632(15)	90(2)
C(5)	24666(18)	158046(15)	51267(15)	101(2)
C(6)	14250(20)	122862(16)	7438(15)	126(2)
C(7)	28236(19)	121283(16)	63873(15)	111(2)
C(8)	31527(19)	159951(16)	80569(15)	115(2)
N(1)	20565(16)	148904(14)	34290(13)	98(2)

TABELA A3. DIMENSÕES MOLECULARES. OS COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO ESTÃO EM ÂNGSTROMS (Å), ÂNGULOS EM GRAUS (°). E.S.DS ESTÃO EM PARÊNTESES.

V(1)-O(1)	1,6134(9)	C(3)-C(4)	1,4020(16)
V(1)-O(2)	1,6548(9)	C(3)-C(7)	1,5024(16)
V(1)-O(4)	1,9299(9)	C(4)-C(5)	1,3770(16)
V(1)-O(3)	1,9922(9)	C(4)-C(8)	1,5043(16)
V(1)-O(3)#1	1,9947(9)	C(5)-N(1)	1,3493(16)
O(3)-C(7)	1,4332(14)	C(5)-H(5)	0,890(18)
O(3)-V(1)#1	1,9947(9)	C(6)-H(6A)	1,006(19)
O(4)-C(2)	1,3243(14)	C(6)-H(6B)	0,96(2)
O(5)-C(8)	1,4217(15)	C(6)-H(6C)	0,968(17)
O(5)-H(1O5)	0,78(2)	C(7)-H(7A)	0,982(17)
C(1)-N(1)	1,3428(15)	C(7)-H(7B)	0,901(17)

C(1)-C(2)	1,4097(16)	C(8)-H(8A)	0,988(18)
C(1)-C(6)	1,4896(16)	C(8)-H(8B)	0,950(18)
C(2)-C(3)	1,4053(16)	N(1)-H(1N1)	0,78(2)
O(1)-V(1)-O(2)	110,07(5)	C(5)-C(4)-C(8)	120,14(11)
O(1)-V(1)-O(4)	101,02(4)	C(3)-C(4)-C(8)	121,53(11)
O(2)-V(1)-O(4)	98,35(4)	N(1)-C(5)-C(4)	120,22(11)
O(1)-V(1)-O(3)	119,58(5)	N(1)-C(5)-H(5)	116,7(12)
O(2)-V(1)-O(3)	129,06(4)	C(4)-C(5)-H(5)	123,1(12)
O(4)-V(1)-O(3)	83,39(4)	C(1)-C(6)-H(6A)	111,3(11)
O(1)-V(1)-O(3)#1	96,01(4)	C(1)-C(6)-H(6B)	108,7(12)
O(2)-V(1)-O(3)#1	95,14(4)	H(6A)-C(6)-H(6B)	110,1(16)
O(4)-V(1)-O(3)#1	153,09(4)	C(1)-C(6)-H(6C)	108,9(10)
O(3)-V(1)-O(3)#1	70,07(4)	H(6A)-C(6)-H(6C)	109,0(15)
C(7)-O(3)-V(1)	127,46(7)	H(6B)-C(6)-H(6C)	108,8(15)
C(7)-O(3)-V(1)#1	121,00(7)	O(3)-C(7)-C(3)	108,44(9)
V(1)-O(3)-V(1)#1	109,93(4)	O(3)-C(7)-H(7A)	110,5(10)
C(2)-O(4)-V(1)	121,34(7)	C(3)-C(7)-H(7A)	111,5(10)
C(8)-O(5)-H(1O5)	106,8(16)	O(3)-C(7)-H(7B)	107,6(11)
N(1)-C(1)-C(2)	117,56(11)	C(3)-C(7)-H(7B)	110,9(11)
N(1)-C(1)-C(6)	120,04(11)	H(7A)-C(7)-H(7B)	107,9(14)
C(2)-C(1)-C(6)	122,40(11)	O(5)-C(8)-C(4)	107,56(10)
O(4)-C(2)-C(3)	121,15(10)	O(5)-C(8)-H(8A)	109,4(10)
O(4)-C(2)-C(1)	119,43(11)	C(4)-C(8)-H(8A)	110,3(10)
C(3)-C(2)-C(1)	119,43(11)	O(5)-C(8)-H(8B)	113,4(11)
C(4)-C(3)-C(2)	120,09(11)	C(4)-C(8)-H(8B)	109,2(11)
C(4)-C(3)-C(7)	123,57(10)	H(8A)-C(8)-H(8B)	107,0(15)

C(2)-C(3)-C(7)	116,31(10)	C(1)-N(1)-C(5)	124,35(11)
C(5)-C(4)-C(3)	118,31(11)	C(1)-N(1)-H(1N1)	118,4(15)
		C(5)-N(1)-H(1N1)	117,3(15)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+2,-z+1

TABELA A4. PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ANISOTRÓPICO ($\text{\AA}^2 \times 10^4$) PARA A EXPRESSÃO: $\exp\{-2\pi^2(h^2a^{*2}U_{11}+...+2hka^*b^*U_{12})\}$. E.S.DS ESTÃO EM PARÊNTESES.

	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
V(1)	121,4(10)	51,6(10)	49,60(10)	13,9(7)	-6,1(7)	22,5(7)
O(1)	186(4)	159(4)	136(4)	89(4)	46(3)	59(4)
O(2)	189(4)	74(4)	108(4)	28(3)	-31(3)	15(3)
O(3)	161(4)	104(4)	67(4)	10(3)	-4(3)	80(3)
O(4)	142(4)	66(4)	96(4)	15(3)	-27(3)	29(3)
O(5)	158(4)	130(4)	73(4)	22(3)	31(3)	18(3)
C(1)	93(5)	103(5)	80(5)	34(4)	9(4)	36(4)
C(2)	84(5)	82(5)	89(5)	27(4)	6(4)	28(4)
C(3)	93(5)	90(5)	81(5)	34(4)	14(4)	33(4)
C(4)	89(5)	90(5)	79(5)	23(4)	14(4)	22(4)
C(5)	117(5)	69(5)	108(5)	26(4)	20(4)	23(4)
C(6)	176(6)	120(5)	80(5)	31(4)	10(4)	58(4)
C(7)	162(6)	110(5)	78(5)	35(4)	22(4)	75(4)
C(8)	138(5)	96(5)	79(5)	14(4)	10(4)	10(4)
N(1)	126(5)	96(5)	94(5)	56(4)	19(4)	39(4)

TABELA A5. COORDENADAS DE HIDROGÊNIO ($\times 10^4$) E PARÂMETROS DE DESLOCAMENTO ISOTRÓPICO ($\text{\AA}^2 \times 10^3$). TODOS OS ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO FORAM LOCALIZADOS EM MAPAS DE DIFERENÇA E FORAM REFINADOS LIVREMENTE.

	x	y	z	U(iso)
H(1O5)	1710(30)	15940(30)	9760(30)	29(5)
H(5)	2550(30)	16940(20)	5520(20)	15(4)
H(6A)	1610(30)	13160(20)	230(20)	20(4)
H(6B)	80(30)	11580(30)	430(20)	23(5)
H(6C)	2340(30)	11550(20)	320(20)	12(4)
H(7A)	1550(20)	11410(20)	6470(20)	9(4)
H(7B)	3420(20)	12830(20)	7450(20)	8(4)
H(8A)	4430(30)	15860(20)	8480(20)	14(4)

H(8B)	3320(30)	17200(20)	8320(20)	16(4)
H(1N1)	1940(30)	15410(30)	2880(30)	22(5)

TABELA A6. ÂNGULOS DE TORÇÃO EM GRAUS. E.S.DS ESTÃO EM PARÊNTESES.

V(1)-O(4)-C(2)-C(3)	-59,84(14)
V(1)-O(4)-C(2)-C(1)	120,54(10)
N(1)-C(1)-C(2)-O(4)	177,68(10)
C(6)-C(1)-C(2)-O(4)	-3,37(17)
N(1)-C(1)-C(2)-C(3)	-1,95(17)
C(6)-C(1)-C(2)-C(3)	177,00(11)
O(4)-C(2)-C(3)-C(4)	-177,45(11)
C(1)-C(2)-C(3)-C(4)	2,18(17)
O(4)-C(2)-C(3)-C(7)	4,43(16)
C(1)-C(2)-C(3)-C(7)	-175,94(11)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	-0,79(17)
C(7)-C(3)-C(4)-C(5)	177,18(11)
C(2)-C(3)-C(4)-C(8)	177,85(10)
C(7)-C(3)-C(4)-C(8)	-4,17(18)
C(3)-C(4)-C(5)-N(1)	-0,80(17)
C(8)-C(4)-C(5)-N(1)	-179,46(11)
V(1)-O(3)-C(7)-C(3)	-52,20(13)
V(1)#1-O(3)-C(7)-C(3)	143,82(8)
C(4)-C(3)-C(7)-O(3)	-130,50(12)
C(2)-C(3)-C(7)-O(3)	47,55(14)
C(5)-C(4)-C(8)-O(5)	118,85(12)
C(3)-C(4)-C(8)-O(5)	-59,77(14)
C(2)-C(1)-N(1)-C(5)	0,37(18)
C(6)-C(1)-N(1)-C(5)	-178,61(11)
C(4)-C(5)-N(1)-C(1)	1,04(18)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+2,-z+1

TABELA A7. LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO, EM ÂNGSTRONS (Å) E GRAUS (°).

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(5)-H(1O5)...O(2)#2	0,78(2)	1,93(2)	2,7051(13)	170(2)
N(1)-H(1N1)...O(2)#3	0,78(2)	2,01(2)	2,7533(14)	158(2)

Transformações de simetria para gerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+2,-z+1 #2 x,y+1,z+1 #3 x,y+1,z

Crystal structure analysis of $[\mu_2-(\text{C}_8\text{H}_{10}\text{NO}_3)_2(\text{VO}_2)_2]$

Crystal data: $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{V}_2$, $M = 502,22$, Triclinic, space group P-1 (no, 2), $a = 6,8719(4) \text{ \AA}$, $b = 8,6381(5) \text{ \AA}$, $c = 8,6481(5) \text{ \AA}$, $\alpha = 113,382(2)^\circ$, $\beta = 91,615(2)^\circ$, $\gamma = 102,239(2)^\circ$, $V = 456,86(5) \text{ \AA}^3$, $Z = 1$, $D_c = 1,825 \text{ mg m}^{-3}$, $F(000) = 256$, $T = 100(2) \text{ K}$, $\mu(\text{Mo-K}\alpha) = 1,086 \text{ mm}^{-1}$, $\lambda(\text{Mo-K}\alpha) = 0,71073 \text{ \AA}$,

Crystals are light green blocks, From a sample under oil, one, $ca\ 0,245 \times 0,162 \times 0,073 \text{ mm}$, was mounted on a Micro-mount and fixed in the cold nitrogen stream on a Bruker D8 Venture diffractometer, equipped with a Photon 100 CMOS detector, Mo-K α radiation and graphite monochromator, Intensity data were measured by thin-slice ω - and ϕ -scans, Total no, of reflections recorded, to $\theta_{\text{max}} = 30^\circ$, was 32330 of which 2670 were unique ($R_{\text{int}} = 0,0285$); 2481 were 'observed' with $I > 2\sigma_I$,

Data were processed using the APEX3 (1) program, The structure was determined by the direct methods routines in the SHELXS program (2A) and refined by full-matrix least-squares methods, on F^2 's, in SHELXL (2B), The non-hydrogen atoms were refined with anisotropic thermal parameters, The hydrogen atoms were located in difference maps and were refined freely, At the conclusion of the refinement, $wR_2 = 0,0644$ and $R_1 = 0,0263$ (2B) for all 2670 reflections weighted $w = [\sigma^2(F_o^2) + (0,0344P)^2 + 0,248P]^{-1}$ with $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$; for the 'observed' data only, $R_1 = 0,0234$,

In the final difference map, the highest peak ($ca\ 0,569 \text{ e\AA}^{-3}$) was on the C1-C2 bond, Scattering factors for neutral atoms were taken from reference (3), Computer programs used in this analysis have been noted above, and were run through WinGX (4) at the Universidade Federal do Paraná,

References

- (1) Program APEX3, Bruker AXS Inc., Madison, WI (2015),
- (2) G, M, Sheldrick, SHELX-97 – Programs for crystal structure determination (SHELXS) and refinement (SHELXL), *Acta Cryst*, (2008) **A64**, 112-122 and (2015) **C71**, 3-8,
- (3) '*International Tables for X-ray Crystallography*', Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (1992), Vol, C, pp, 500, 219 and 193,
- (4) L, J, Farrugia, (2012) *J, Appl, Cryst*, **45**, 849–854,